

Государственное
бюджетное учреждение
здравоохранения «Санкт-
Петербургский клинический
научно-практический
центр специализированных
видов медицинской помощи
(онкологический)»,

(Санкт-Петербург, Россия)

ПРЯМАЯ ФОТОГЕНЕРАЦИЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ ДЛЯ ТЕРАПИИ РАКА*

А.А. Богданов, В.В. Клименко, Ан.А. Богданов, Н.А. Верлов,
В.М. Моисеенко

DIRECT PHOTOGENERATION OF SINGLET OXYGEN IN BIOLOGICAL MEDIUM FOR CANCER THERAPY

А.А. Богданов

Кандидат физико-математических наук, заместитель директора по научной работе ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)».

197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, Ленинградская ул., д. 68А.
ORCID: 0000-0002-7887-4635.

В.В. Клименко

Младший научный сотрудник ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)».

197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, Ленинградская ул., д. 68А.
ORCID: 0000-0002-6234-0604.

Ан.А. Богданов

Младший научный сотрудник ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)».

197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, Ленинградская ул., д. 68А.
ORCID: 0000-0002-0824-6633.

Н.А. Верлов

Кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)».

197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, Ленинградская ул., д. 68А.

В.М. Моисеенко

член-корреспондент РАН, профессор, доктор медицинских наук, директор ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)».

197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, Ленинградская ул., д. 68А.
ORCID: 0000-0003-4807-7915.

A.A. Bogdanov

PhD, Deputy director for science,
Saint Petersburg Clinical Research and Practical Centre of Specialized Types of Medical Care
(Oncological).

197758, Saint-Petersburg, Pesochny-2, Leningradskaya str. 68a Lit A.
ORCID: 0000-0002-7887-4635.

V.V. Klimenko

Junior researcher, Saint Petersburg Clinical Research and Practical Centre of Specialized
Types of Medical Care (Oncological).

197758, Saint-Petersburg, Pesochny-2, Leningradskaya str. 68a Lit A.
ORCID: 0000-0002-6234-0604

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-25-20050, <https://rscf.ru/project/22-25-20050/>, и гранта Санкт-Петербургского научного фонда в соответствии с Соглашением от 15 апреля 2022 г. № 51/2022.

An.A. Bogdanov

Junior researcher, Saint Petersburg Clinical Research and Practical Centre of Specialized Types of Medical Care (Oncological).
197758, Saint-Petersburg, Pesochny-2, Leningradskaya str. 68a Lit A.

ORCID: 0000-0002-0824-6633

N.A. Verlov

PhD, Leading researcher, Saint Petersburg Clinical Research and Practical Centre of Specialized Types of Medical Care (Oncological).
197758, Saint-Petersburg, Pesochny-2, Leningradskaya str. 68a Lit A.

V.M. Moiseyenko

Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Professor, DSc, PhD, MD, Director, Saint Petersburg Clinical Research and
Practical Centre of Specialized Types of Medical Care (Oncological). Saint Petersburg, Russia.

ORCID: 0000-0003-4807-7915

Прогресс в лечении рака требует постоянного совершенствования и поиска новых методов его терапии. В настоящее время методы прямой фотогенерации синглетного кислорода в тканях инфракрасными (ИК) лазерами могут стать эффективной альтернативой фотодинамической терапии опухолей. Физическим ограничением для применения данных методов в биологической среде является низкое сечение поглощения молекулярного кислорода. Для преодоления этого ограничения необходимо использовать высокие плотности мощности ИК-излучения, что в живой системе ограничено тепловыми эффектами. Перспективным направлением развития данного подхода может быть использование импульсных режимов лазерного облучения. Решение проблемы прямой фотогенерации цитотоксических концентраций синглетного кислорода в биологической среде, включая опухолевую ткань, без сопутствующего нагрева до биокритических температур позволит разработать новые эффективные и безопасные методы лечения злокачественных новообразований.

Ключевые слова: синглетный кислород, прямая фотогенерация, активные формы кислорода, терапия рака, фотобиомодуляция.

Advances in cancer treatment require continuous improvement and the search for new therapies. Methods for direct photogeneration of singlet oxygen in tissue using IR lasers may be an effective alternative to photodynamic tumor therapy. The physical limitation for the direct photogeneration of singlet oxygen in a biological medium is the low absorption cross section of molecular oxygen. To overcome this limitation, it is necessary to use infrared radiation with a high power density, which in a living system is limited by thermal effects. A promising direction in the development of this approach could be the use of pulsed laser irradiation. By solving the problem of direct photogeneration of cytotoxic concentrations of singlet oxygen in a biological environment, including tumor tissue, without simultaneous heating to biocritical temperatures, it is possible to develop new effective and safe methods for the treatment of malignant neoplasms.

Key words: single oxygen, direct photogeneration, reactive oxygen species, cancer therapy, photobiomodulation.

Введение

На сегодняшний день фотодинамическая терапия (ФДТ) является дополнительным перспективным малоинвазивным методом лечения солидных опухолей [1–3]. В основе эффекта ФДТ лежит применение (введение в организм) фотосенсибилизаторов (ФС) – фоточувствительных молекул. При возбуждении излучением (напр., лазерным) на длинах волн их максимума поглощения они передают энергию растворенному молекулярному кислороду ($^3\text{O}_2$), приводя к образованию активных форм кислорода, – в первую очередь, синглетного кислорода ($^1\text{O}_2$). Синглетный кислород окисляет окружающие биомолекулы, что в итоге приводит к гибели опухолевых клеток путем апоптоза и/или некроза, к нарушениям микроциркуляторного русла опухоли, к стимуляции противоопухолевого иммунного ответа [4–6]. Отметим, что существует прямая зависимость эффективности ФДТ от количества наработанного синглетного кислорода, поэтому количественные методы измерения генерации синглетного кислорода во время терапии имеют огромное значение как для доклинических исследований, так и для клинической

практики [7]. Также, по сравнению с традиционными терапевтическими методами, ФДТ может обладать большей селективностью воздействия на опухоль благодаря тенденции лучшего накопления фотосенсибилизаторов в опухоли по сравнению с нормальной тканью за счет измененных васкуляризации и метаболизма, а также прицельному воздействию лазерного излучения на опухолевый очаг [1–6].

В то же время ФДТ обладает рядом клинических побочных эффектов, основным из которых является фотосенсибилизация кожи и глаз после введения ФС, что приводит к необходимости световой изоляции пациентов на достаточно длительное время. Токсические и аллергические реакции зачастую не позволяют применять ФС с частотой, необходимой для эффективного подавления опухолевого процесса [8, 9]. Биофизическим ограничением эффективности ФДТ является относительно низкая оксигенация опухолевой ткани [10, 11]. Проблему оксигенации можно частично решить использованием более низких интенсивностей излучения или применением импульсно-периодических режимов облучения,

которые повышают биологическую эффективность воздействия, но также приводят к увеличению длительности терапевтических процедур [12–14]. Также лимитирующими факторами эффективности ФДТ являются гетерогенное накопление ФС в опухоли и выгорание ФС во время облучения [15, 16].

Весьма привлекательной является идея прямой фотогенерации синглетного кислорода в опухоли без использования ФС, например, инфракрасным лазерным излучением [17, 18]. Однако оптическое возбуждение молекулярного кислорода слабоэффективно, и для достижения биологически значимых (цитотоксических) концентраций синглетного кислорода необходимо использовать высокие плотности мощности лазерного излучения. При этом основной проблемой прямой фотогенерации синглетного кислорода в биологической среде становится более высокое поглощение излучения в ИК-области молекулами воды, что приводит к нагреву ткани и нежелательному термическому поражению. Перспективным направлением развития данного подхода может быть использование импульсных режимов лазерного облучения – по аналогии с режимами, разработанными для стандартной ФДТ опухолей [13]. Решение проблемы прямой фотогенерации цитотоксических концентраций синглетного кислорода в биологической среде, включая опухолевую ткань, без сопутствующего нагрева до биокритических температур позволит разработать новые эффективные и безопасные методы лечения злокачественных новообразований.

В данном обзоре обобщены результаты экспериментальных исследований по прямой фотогенерации синглетного кислорода в растворах и биологических средах, а также результаты имеющихся смежных исследований по применению ИК-излучения для фотобиомодуляции за счет генерации активных форм кислорода. Эти исследования создают предпосылки для использования в онкологии.

Прямая фотогенерация синглетного кислорода в растворах

Синглетный кислород $^1\text{O}_2$ является возбужденным состоянием молекулярного кислорода. При воздействии ИК-лазерного излучения в диапазоне длин волн около 765 нм, 1064 нм и 1260–1280 нм возможен переход молекулярного кислорода из основного триплетного состояния в возбужденное синглетное состояние. Синглетный кислород является активным химическим окислителем и может проводить к повреждению биологических объектов [19]. Оптическое возбуждение молекулярного кислорода имеет слабую эффективность и для достижения биологически значимых концентраций синглетного кислорода необходимо использовать высокие плотности мощности лазерного излучения – например, на длине волны 1270 нм.

Возможность прямой лазерной фотогенерации синглетного кислорода в различных растворителях

была показана в большом количестве работ [19–22]. Например, в работе Jockusch S. и соавторов [20] было продемонстрировано прямое возбуждение молекулярного кислорода на длине волны 1064 нм и обнаружена люминесценция синглетного кислорода на длине волны 1270 нм. Синглетный кислород был получен в конденсированной фазе при температуре $-196\text{ }^\circ\text{C}$ без использования фотосенсибилизаторов. В то же время наибольшую эффективность прямой фотогенерации синглетного кислорода можно наблюдать в четыреххлористом углероде CCl_4 с использованием метода химических ловушек, поскольку в данном растворителе концентрация триплетного молекулярного кислорода имеет высокие значения около 2,9 мМ, а время жизни возбужденного синглетного кислорода $^1\text{O}_2$ составляет порядка 25–30 мс. Химическая ловушка 1,3-дифенилизобензофуран (DPIBF) в четыреххлористом углероде CCl_4 имеет высокую константу скорости реакции с синглетным кислородом $^1\text{O}_2$ около $10^9\text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ и характерный спектр поглощения с максимумом на 416 нм. При взаимодействии химической ловушки DPIBF с синглетным кислородом происходит снижение поглощения раствора на длине волны 416 нм пропорционально концентрации образовавшегося синглетного кислорода $^1\text{O}_2$ [23]. В работах Krasnovsky A. и соавт. [21, 22] было представлено исследование скорости фотоокисления химических ловушек в четыреххлористом углероде и в воде при фотосенсибилизированной генерации синглетного кислорода с использованием порфирина и при прямом возбуждении молекулярного кислорода. При одинаковой плотности мощности излучения отношение скоростей возбуждения кислорода составило $\sim 10^4$. Основным результатом работ было определение значения молярного коэффициента поглощения и сечения поглощения света на длинах волн – 1273, 765 нм и 1073 нм, соответствующим максимумам поглощения кислорода. Отношение сечения поглощения света на длинах волн – 1273, 765 нм составило 7/1 в четыреххлористом углероде и 1,5/1 в воде. Эффект был обусловлен уменьшением молярного коэффициента поглощения при переходе от неполярных растворителей к воде.

Таким образом, были получены экспериментальные данные, демонстрирующие возможность генерации синглетного кислорода путем прямого лазерного возбуждения молекулярного кислорода в органических растворителях и в воде. Полученные спектры поглощения кислорода в ИК области 700–1300 нм позволили выявить специфические длины волн (765 нм, 1064 и 1273 нм) для дальнейшего исследования генерации синглетного кислорода в биологических средах. Данная информация имеет фундаментальное значение для понимания спектроскопии молекулярного кислорода, а также практическое значение для создания новых методик прямой

фотогенерации синглетного кислорода и оценки ее биологического действия.

Прямая фотогенерация синглетного кислорода в биологических средах

Существует ряд исследований, в которых демонстрируется, что фотогенерация синглетного кислорода в биологических средах под действием лазерного излучения происходит непосредственно из-за генерации и действия синглетного кислорода и активных форм кислорода (АФК), а не является следствием температурного воздействия из-за поглощения среды [24–26].

В работе Sokolovski S. и соавт. [24] было показано, что при воздействии излучением полупроводникового лазера 1268 нм на клетки HeLa при дозе облучения 120 Дж/см² наблюдается генерация активных форм кислорода, приводящая к достоверной клеточной гибели. В работе Saenko Y. и соавт. [25] представлено исследование выживаемости клеток HCT-116 и CHO-K при воздействии излучением лазера с длиной волны 1265 нм. Лазерное облучение клеток HCT-116 и CHO-K вызывало их дозозависимую гибель за счет увеличения внутриклеточной концентрации активных форм кислорода, увеличения повреждения ДНК, снижения митохондриального потенциала и снижения уровня глутатиона. При дозе облучения 400 Дж/см² была продемонстрирована гибель 25% клеток. В работе Anquez F и соавт. [26] были выполнены исследования воздействия ИК-излучения на клеточную культуру рака молочной железы MCF-7 в диапазоне длин волн 1200–1300 нм при использовании фокусированного лазерного излучения для минимизации теплового эффекта. Было показано, что длина волны 1273 нм соответствовала максимуму цитотоксического эффекта на клетках. Авторами впервые была определена пороговая доза облучения 360 000 Дж/см², на длине волны 1273 нм приводящая к 100% гибели клеток MCF-7. Такая же доза облучения на длине волны 1300 нм не приводила к цитотоксическому воздействию за счет одного лишь теплового эффекта. В недавней работе Novikova и соавт. было продемонстрировано, что воздействие лазерным излучением на длине волны 1267 нм в дозе 200 Дж/см² на одиночные клетки меланомы В16 приводит к образованию в них синглетного кислорода и вызывает апоптотическую гибель за счет активации переходной поры проницаемости митохондрий [27]. При этом такое же воздействие не вызывало подобных эффектов на нормальных фибробластах. Отметим, что в связанной работе Dremin и соавт. была произведена компьютерная симуляция теплового воздействия используемого режима лазера, и было показано, что при нем не должно происходить значимого нагрева культуральной среды [28].

В работе Vreghnoј и соавт. [29] было проведено исследование 30-минутного воздействия лазерного

излучения 765 нм и 800 нм мощностью 700 мВт, сфокусированного внутри и снаружи отдельных клеток эпидермальной карциномы шейки матки HeLa. Было показано, что при воздействии излучением 765 нм наблюдается достоверный цитотоксический эффект на опухолевых клетках. В работе Blazquez-Castro и соавт. [30] было показано, что лазерное излучение 765 нм, сфокусированное внутри клетки, может влиять на клеточный цикл за счет генерации синглетного кислорода. При этом фокусировка в цитоплазме вызывала умеренное усиление пролиферации, в то время как облучение ядра приводило к существенной задержке начала и завершения митоза. Однако несмотря на потенциальную выгоду с точки зрения минимизации тепловых эффектов, данных о возможности эффективного использования лазерного излучения 765 нм с целью генерации цитотоксических концентраций синглетного кислорода в биологической среде на настоящий момент недостаточно. Возможно, это связано с отсутствием лазерных систем необходимой мощности для данной длины волны. Кроме того, экспериментальные данные, полученные методом фотодеградации химических ловушек, свидетельствуют о том, что эффективное сечение поглощения молекулярного кислорода в воде на длине волны 1273 нм больше, чем на длине 765 нм в 1,5 раза [20]. Данный факт, в сочетании с созданием современных мощных лазеров, на наш взгляд, делает полосу поглощения молекулярного кислорода в окрестностях 1273 нм более привлекательной для разработки методик прямой фотогенерации цитотоксических концентраций синглетного кислорода в биологической среде. В дальнейшем эти методики могут быть транслированы в онкологическую практику.

Фотобиомодуляция ИК-излучением

В последнее время многие исследователи, специализирующиеся в различных дисциплинах, сосредоточили свои усилия на изучении эффектов низкоинтенсивного светового облучения (фотобиомодуляции) как перспективной терапевтической технологии. Одним из приоритетных направлений ее развития является поиск новых диапазонов длин волн лазерного излучения для применения лазера в лечении аутоиммунных и онкологических заболеваний, часто сопровождающихся нарушениями в антиоксидантной системе организма. Длина волны лазера в пределах 1265–1275 нм соответствует максимальной полосе поглощения кислорода, поэтому воздействие фотобиомодулирующего излучения на модели *in vivo* в данном диапазоне спектра представляет особый интерес для доклинических исследований.

Например, в работе Dolgova D. и соавт. [31] представлены результаты исследований воздействия непрерывным лазерным излучением с длиной волны 1270 нм на мышью BALB/c при плотности энергии

0,12 и 1,2 Дж/см². Было показано, что такой режим индуцирует как локальные, так и системные эффекты ИК-фотобиомодуляции – противовоспалительный и пролиферативный. Предположительно, это происходит за счет кратковременного повышения уровня активных форм кислорода, которые активируют антиоксидантную систему клетки. Авторы статьи предлагают провести дальнейшие исследования с более высокими дозами облучения для оценки возможности лечения опухолей меланомы на модель мышей BALB/c.

С другой стороны, использование неповреждающего лазерного излучения может представлять собой новый подход к усилению иммунного ответа на антиген – например, при внутрикожной вакцинации [32]. В частности, исследование Kashiwagi S и соавт. [33] показало, что сильный ответ на вакцину можно индуцировать с помощью относительно простых лазерных систем малой мощности. В исследовании использовали непрерывный лазер ближнего инфракрасного диапазона. Авторы показали, что воздействие лазерным ИК-излучением повышает экспрессию специфических хемокинов в коже, что приводит к активации дендритных клеток, и такое воздействие безопасно для использования как у мышей, так и у людей.

В работе Kimizuka Y. и соавт. [34] также представлена новая стратегия усиления иммунного ответа на внутрикожную вакцинацию за счет обработки поверхности кожи маломощным непрерывным лазером ближнего ИК-диапазона перед вакцинацией. Данная методика позиционируется как возможная замена химического адъюванта, который нередко приводит к неблагоприятным последствиям. Авторы исследовали причину возникновения иммунологического ответа при воздействии непрерывного лазера с длиной волны 1064 нм на экспериментальной модели мышей. Было обнаружено, что кратковременное воздействие непрерывного ИК-лазера стимулирует тучные клетки за счет образования активных форм кислорода, создает иммуностимулирующую среду в тканях и обеспечивает сигналы миграции дендритных клеток CD103⁺ дермы, не вызывая длительного воспаления и в конечном итоге усиливая адаптивный иммунный ответ.

В работе Katagiri W и соавт. [35] было представлено исследование комбинированного воздействия лазерного излучения на двух длинах волн 1064 нм и 1270 нм. Было показано, что специфическая комбинация лазерного излучения при низкой плотности мощности (250–400 мВт/см² для 1064 нм и 55–65 мВт/см² для 1270 нм) модулирует митохондриальную ретроградную передачу сигналов, приводит к повышению внутриклеточного кальция и генерации активных форм кислорода в Т-клетках. Было показано, что ИК-излучение может привести к высвобождению оксида азота, потенциального индуктора данных изменений.

В работе Yokomizo S. и соавт. [36] было исследовано влияние ИК-лазера и химических адъювантов на иммуногенность через 1, 2 и 4 недели после внутрикожной вакцинации против вируса гриппа у мышей. Лазерный адъювант усиливал ранний ответ антител, в то время как широко используемый квасцовый адъювант индуцировал более поздний ответ. Адъюванты типа «масло в воде» и алюминиевые адъюванты, но не ИК-лазер, вызывали эскалацию ответов TH2 с ответами аллергенного иммуноглобулина E. Эффект ИК-лазера был значительно подавлен у мышей с нокаутом гена BATF (фактор транскрипции лейциновой молнии, ATF-подобный), что указывает на критическую роль кластера дифференцировки дендритных клеток CD103⁺. Авторы предполагают, что ИК-лазерный адъювант является альтернативой химическим и биологическим агентам для своевременной борьбы с возникающими инфекционными заболеваниями. Кроме того, его иммуномодулирующее свойство может быть использовано для повышения эффективности иммунотерапии аллергии и рака.

В работе Gelfand J. и соавт. [37] было проведено пилотное клиническое исследование на 18 пациентах ИК-лазерного адъюванта для вакцинации. По данным биопсии, в области облучения наблюдалось значительное снижение количества CD1a⁺ клеток Лангерганса и CD11c⁺ дермальных дендритных клеток, что соответствует повышенной миграционной активности этих клеток. Признаков термического повреждения кожи не наблюдалось. Авторы сообщают что ИК-лазерный адъювант является безопасным, хорошо переносимым для внутрикожной вакцинации людей, а главное, приводит к активации кожных иммунных клеток.

Таким образом, в большинстве экспериментальных исследований по фотобиомодуляции с использованием ИК-излучения было показано, что именно активные формы кислорода приводят к иммуномодуляции и активации дендритных клеток, а также было продемонстрировано усиление иммунного ответа при комбинированном применении ИК-лазеров в качестве адъюванта с внутрикожной вакцинацией против вируса гриппа у мышей. В клинических исследованиях на пациентах было показано, что облучение отдельно взятым ИК-лазером 1064 нм приводило к статистически значимому увеличению количества антиген презентующих клеток и повышению кожной миграции дендритных клеток, вызванному безболезненным, неразрушающим лазерным воздействием. Данные факты свидетельствуют в пользу того, что применение ИК-лазерного излучения для прямой фотогенерации синглетного кислорода может иметь не только цитотоксический эффект за счет окисления биомолекул, но и иммунные эффекты за счет фотобиомодуляции. Однако в данном направлении требуются дополнительные исследования.

Заключение

Идея прямой фотогенерации синглетного кислорода в опухолевой ткани без использования ФС – например, инфракрасным лазерным излучением, является весьма привлекательной. Физическим ограничением для применения данного метода в биологической среде является низкое сечение поглощения молекулярного кислорода. Для преодоления этого ограничения необходимо использовать высокие плотности мощности ИК излучения, что в живой системе ограничено тепловыми эффектами. Перспективным направлением развития данного подхода может быть использование импульсных режимов лазерного облучения.

Решение проблемы прямой фотогенерации цитотоксических концентраций синглетного кислорода

в биологической среде, включая опухолевую ткань, без сопутствующего нагрева до биокритических температур позволит разработать новые эффективные и безопасные методы лечения злокачественных новообразований.

Используемые сокращения:

$^1\text{O}_2$ – синглетный кислород;
 $^3\text{O}_2$ – триплетный кислород;
 DPBF – 1,3-дифенилизобензофуран;
 АФК – активные формы кислорода;
 ИК – инфракрасный;
 ФДТ – фотодинамическая терапия;
 ФС – фотосенсибилизатор.

Список литературы

1. Allison R.R., Sibata C.H. Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: a clinical review // Photodiagnosis Photodyn Ther. – 2010. – Vol. 7, № 2. – P. 61–75.
2. Correia J.H., Rodrigues J.A., Pimenta S., Dong T., Yang Z. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions // Pharmaceutics. – 2021. – Vol. 13, № 9.
3. Аккалаева А.Э., Клименко В.В., Аванесян А.А., Егоренков В.В., Богданов А.А., Моисеенко В.М. Возможности применения внутрипросветной фотодинамической терапии в онкологии (обзор) // Практическая онкология. – 2022. – Т. 23, № 2. – С. 100–108.
4. Castano A.P., Mroz P., Hamblin M.R. Photodynamic therapy and anti-tumour immunity // Nature Reviews Cancer. – 2006. – Vol. 6, № 7. – P. 535–545.
5. Dolmans D.E.J.G.J., Fukumura D., Jain R.K. Photodynamic therapy for cancer // Nature Reviews Cancer. – 2003. – Vol. 3, № 5. – P. 380–387.
6. dos Santos A.F., de Almeida D.R.Q., Terra L.F., Baptista M.S., Labriola L. Photodynamic therapy in cancer treatment - an update review // Journal of Cancer Metastasis and Treatment. – 2019. – Vol. 5. – P. 25.
7. Li B., Lin L., Lin H., Wilson B.C. Photosensitized singlet oxygen generation and detection: Recent advances and future perspectives in cancer photodynamic therapy // J Biophotonics. – 2016. – Vol. 9, № 11–12. – P. 1314–1325.
8. Allison R.R., Downie G.H., Cuenca R., Hu X.H., Childs C.J., Sibata C.H. Photosensitizers in clinical PDT // Photodiagnosis Photodyn Ther. – 2004. – Vol. 1, № 1. – P. 27–42.
9. Gunaydin G., Gedik M. E., Ayan S. Photodynamic Therapy-Current Limitations and Novel Approaches // Front Chem. – 2021. – Vol. 9. – P. 691697.
10. Foster T.H., Hartley D.F., Nichols M.G., Hilf R. Fluence rate effects in photodynamic therapy of multicell tumor spheroids // Cancer Res. – 1993. – Vol. 53, № 6. – P. 1249–54.
11. Wan Y., Fu L.-H., Li C., Lin J., Huang P. Conquering the Hypoxia Limitation for Photodynamic Therapy // Advanced Materials. – 2021. – Vol. 33, № 48. – P. 2103978.
12. Henderson B.W., Busch T.M., Vaughan L.A., Frawley N.P., Babich D., Sosa T.A., Zollo J.D., Dee A.S., Cooper M.T., Bellnier D.A., Greco W.R., Oseroff A.R. Photofrin photodynamic therapy can significantly deplete or preserve oxygenation in human basal cell carcinomas during treatment, depending on fluence rate // Cancer Res. – 2000. – Vol. 60, № 3. – P. 525–9.
13. Klimenko V.V., Knyazev N.A., Moiseenko F.V., Rusanov A.A., Bogdanov A.A., Dubina M.V. Pulse mode of laser photodynamic treatment induced cell apoptosis // Photodiagnosis Photodyn Ther. – 2016. – Vol. 13. – P. 101–107.
14. Turan I.S., Yildiz D., Tursoy A., Gunaydin G., Akkaya E.U. A Bifunctional Photosensitizer for Enhanced Fractional Photodynamic Therapy: Singlet Oxygen Generation in the Presence and Absence of Light // Angewandte Chemie International Edition. – 2016. – Vol. 55, № 8. – P. 2875–2878.
15. Atif M., Zellweger M., Wagnieres G. Review of the role played by the photosensitizer's photobleaching during photodynamic therapy // Journal of Optoelectronics and Advanced Materials. – 2016. – Vol. 18, № ARTICLE. – P. 338–350.
16. Strattonnikov A.A., Meerovich G.A., Loschenov V.B. Photobleaching of photosensitizers applied for photodynamic therapy // Optical Methods for Tumor Treatment and Detection: Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy IX. – Vol. 3909 –SPIE, 2000. – P. 81–91.

17. Krasnovsky A.A., Roubal Y.V., Strizbakov A.A. Rates of $1O_2$ ($1\Delta g$) production upon direct excitation of molecular oxygen by 1270nm laser radiation in air-saturated alcohols and micellar aqueous dispersions // *Chemical Physics Letters*. – 2008. – Vol. 458, № 1. – P. 195–199.

18. Krasnovsky A.A., Ambartzumian R.V. Tetracene oxygenation caused by infrared excitation of molecular oxygen in air-saturated solutions: the photoreaction action spectrum and spectroscopic parameters of the $1\Delta g \leftarrow 3\Sigma g^-$ transition in oxygen molecules // *Chemical Physics Letters*. – 2004. – Vol. 400, № 4. – P. 531–535.

19. Blázquez-Castro A. Direct (1)O(2) optical excitation: A tool for redox biology // *Redox Biol.* – 2017. – Vol. 13. – C. 39–59.

20. Jockusch S., Turro N.J., Thompson E.K., Gouterman M., Callis J.B., Khalil G.E. Singlet molecular oxygen by direct excitation // *Photochemical & Photobiological Sciences*. – 2008. – Vol. 7, № 2. – P. 235–239.

21. Krasnovsky A.A., Kozlov A.S., Roubal Y.V. Photochemical investigation of the IR absorption bands of molecular oxygen in organic and aqueous environment // *Photochemical & Photobiological Sciences*. – 2012. – Vol. 11, № 6. – P. 988–997.

22. Krasnovsky A.A., Kozlov A.S. Photonics of dissolved oxygen molecules. Comparison of the rates of direct and photosensitized excitation of oxygen and reevaluation of the oxygen absorption coefficients // *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. – 2016. – Vol. 329. – P. 167–174.

23. Young R.H., Brewer D., Keller R.A. Determination of rate constants of reaction and lifetimes of singlet oxygen in solution by a flash photolysis technique // *Journal of the American Chemical Society*. – 1973. – Vol. 95, № 2. – P. 375–379.

24. Sokolovski S.G., Zolotovskaya S.A., Goltsov A., Pourreyron C., South A.P., Rafailov E.U. Infrared laser pulse triggers increased singlet oxygen production in tumour cells // *Scientific Reports*. – 2013. – Vol. 3, № 1. – P. 3484.

25. Saenko Y.V., Glushchenko E.S., Zolotovskii I.O., Sholokhov E., Kurkov A. Mitochondrial dependent oxidative stress in cell culture induced by laser radiation at 1265 nm // *Lasers Med Sci*. – 2016. – Vol. 31, № 3. – P. 405–13.

26. Anquez F., El Yazidi-Belkoura I., Randoux S., Suret P., Courtade E. Cancerous cell death from sensitizer free photoactivation of singlet oxygen // *Photochem Photobiol.* – 2012. – Vol. 88, № 1. – P. 167–74.

27. Novikova I.N., Potapova E.V., Dremine V.V., Dunaev A.V., Abramov A.Y. Laser-induced singlet oxygen selectively triggers oscillatory mitochondrial permeability transition and apoptosis in melanoma cell lines // *Life Sciences*. – 2022. – Vol. 304. – P. 120720.

28. Dremine V., Novikova I., Rafailov E. Simulation of thermal field distribution in biological tissue and cell culture media irradiated with infrared wavelengths // *Optics Express*. – 2022. – Vol. 30, № 13. – P. 23078–23089.

29. Bregnhøj M., Blázquez-Castro A., Westberg M., Breitenbach T., Ogilby P.R. Direct 765 nm Optical Excitation of Molecular Oxygen in Solution and in Single Mammalian Cells // *The Journal of Physical Chemistry B*. – 2015. – Vol. 119, № 17. – P. 5422–5429.

30. Blázquez-Castro A., Breitenbach T., Ogilby P.R. Cell cycle modulation through subcellular spatially resolved production of singlet oxygen via direct 765 nm irradiation: manipulating the onset of mitosis // *Photochemical & Photobiological Sciences*. – 2018. – Vol. 17, № 10. – P. 1310–1318.

31. Dolgova D., Abakumova T., Gening T., Poludnyakova L., Zolotovskii I., Stoliarov D., Fotiadi A., Khokhlova A., Rafailov E., Sokolovski S. Anti-inflammatory and cell proliferative effect of the 1270 nm laser irradiation on the BALB/c nude mouse model involves activation of the cell antioxidant system // *Biomed Opt Express*. – 2019. – Vol. 10, № 8. – P. 4261–4275.

32. Kasbiwagi S., Brauns T., Gelfand J., Poznansky M.C. Laser vaccine adjuvants. History, progress, and potential // *Hum Vaccin Immunother.* – 2014. – Vol. 10, № 7. – P. 1892–907.

33. Kasbiwagi S., Yuan J., Forbes B., Hibert M.L., Lee E.L.Q., Whicher L., Goudie C., Yang Y., Chen T., Edelblute B., Collette B., Edington L., Trussler J., Nezivar J., Leblanc P., Bronson R., Tsukada K., Suematsu M., Dover J., Brauns T., Gelfand J., Poznansky M.C. Near-Infrared Laser Adjuvant for Influenza Vaccine // *PLOS ONE*. – 2013. – Vol. 8, № 12. – P. e82899.

34. Kimizuka Y., Katagiri W., Locascio J.J., Shigeta A., Sasaki Y., Shibata M., Morse K., Sîrbulescu R.F., Miyatake M., Reeves P., Suematsu M., Gelfand J., Brauns T., Poznansky M.C., Tsukada K., Kasbiwagi S. Brief Exposure of Skin to Near-Infrared Laser Modulates Mast Cell Function and Augments the Immune Response // *J Immunol.* – 2018. – Vol. 201, № 12. – P. 3587–3603.

35. Katagiri W., Lee G., Tanushi A., Tsukada K., Choi H.S., Kasbiwagi S. High-throughput single-cell live imaging of photobiomodulation with multispectral near-infrared lasers in cultured T cells // *J Biomed Opt.* – 2020. – Vol. 25, № 3. – P. 1–18.

36. Yokomizo S., Katagiri W., Maki Y., Sano T., Inoue K., Fukushi M., Atochin D.N., Kushibiki T., Kawana A., Kimizuka Y. Brief exposure of skin to near-infrared laser augments early vaccine responses // *Nanophotonics*. – 2021. – Vol. 10, № 12. – P. 3187–3197.

37. Gelfand J.A., Nazarian R.M., Kasbiwagi S., Brauns T., Martin B., Kimizuka Y., Korek S., Botvinick E., Elkins K., Thomas L., Locascio J., Parry B., Kelly K.M., Poznansky M.C. A pilot clinical trial of a near-infrared laser vaccine adjuvant: safety, tolerability, and cutaneous immune cell trafficking // *Faseb j.* – 2019. – Vol. 33, № 2. – P. 3074–3081.

References

1. Allison R.R., Sibata C.H. Oncologic photodynamic therapy photosensitizers: a clinical review. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2010; 7(2): 61-75.
2. Correia J.H., Rodrigues J.A., Pimenta S., Dong T., Yang Z. Photodynamic Therapy Review: Principles, Photosensitizers, Applications, and Future Directions. *Pharmaceutics.* 2021; 13(9).
3. [Akkalaeva A.E., Klimenko V.V., Avanesyan A.A., Egorenkov V.V., Bogdanov A.A., Moiseyenko V.M. Possibilities of intraluminal photodynamic therapy in oncology (review). *Practical Oncology.* 2022; 23(2): 100-8 (In Russ)].
4. Castano A.P., Mroz P., Hamblin M.R. Photodynamic therapy and anti-tumour immunity. *Nature Reviews Cancer.* 2006; 6(7): 535-45.
5. Dolmans D.E.J.G.J., Fukumura D., Jain R.K. Photodynamic therapy for cancer. *Nature Reviews Cancer.* 2003; 3(5): 380-7.
6. dos Santos A.F., de Almeida D.R.Q., Terra L.F., Baptista M.S., Labriola L. Photodynamic therapy in cancer treatment - an update review. *Journal of Cancer Metastasis and Treatment.* 2019; 5: 25.
7. Li B., Lin L., Lin H., Wilson B.C. Photosensitized singlet oxygen generation and detection: Recent advances and future perspectives in cancer photodynamic therapy. *J Biophotonics.* 2016; 9(11-12): 1314-25.
8. Allison R.R., Downie G.H., Cuenca R., Hu X.H., Chibids C.J., Sibata C.H. Photosensitizers in clinical PDT. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2004; 1(1): 27-42.
9. Gunaydin G., Gedik M. E., Ayan S. Photodynamic Therapy-Current Limitations and Novel Approaches. *Front Chem.* 2021; 9: 691697.
10. Foster T.H., Hartley D.F., Nichols M.G., Hilf R. Fluence rate effects in photodynamic therapy of multicell tumor spheroids. *Cancer Res.* 1993; 53(6): 1249-54.
11. Wan Y., Fu L.-H., Li C., Lin J., Huang P. Conquering the Hypoxia Limitation for Photodynamic Therapy. *Advanced Materials.* 2021; 33(48): 2103978.
12. Henderson B.W., Busch T.M., Vaughan L.A., Frawley N.P., Babich D., Sosa T.A., et al. Photofrin photodynamic therapy can significantly deplete or preserve oxygenation in human basal cell carcinomas during treatment, depending on fluence rate. *Cancer Res.* 2000; 60(3): 525-9.
13. Klimenko V.V., Knyazev N.A., Moiseenko F.V., Rusanov A.A., Bogdanov A.A., Dubina M.V. Pulse mode of laser photodynamic treatment induced cell apoptosis. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2016; 13: 101-7.
14. Turan I.S., Yildiz D., Turksoy A., Gunaydin G., Akkaya E.U. A Bifunctional Photosensitizer for Enhanced Fractional Photodynamic Therapy: Singlet Oxygen Generation in the Presence and Absence of Light. *Angewandte Chemie International Edition.* 2016; 55(8): 2875-8.
15. Atif M., Zellweger M., Wagnieres G. Review of the role played by the photosensitizer's photobleaching during photodynamic therapy. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials.* 2016; 18(ARTICLE): 338-50.
16. Strattonnikov A.A., Meerovich G.A., Loschenov V.B., editors. Photobleaching of photosensitizers applied for photodynamic therapy. *Optical Methods for Tumor Treatment and Detection: Mechanisms and Techniques in Photodynamic Therapy IX*; 2000: SPIE.
17. Krasnovsky A.A., Roumbal Y.V., Strizbakov A.A. Rates of 1O_2 ($^1\Delta_g$) production upon direct excitation of molecular oxygen by 1270nm laser radiation in air-saturated alcohols and micellar aqueous dispersions. *Chemical Physics Letters.* 2008; 458(1): 195-9.
18. Krasnovsky A.A., Ambartzumian R.V. Tetracene oxygenation caused by infrared excitation of molecular oxygen in air-saturated solutions: the photoreaction action spectrum and spectroscopic parameters of the $^1\Delta_g \leftarrow ^3\Sigma_g^-$ transition in oxygen molecules. *Chemical Physics Letters.* 2004; 400(4): 531-5.
19. Blázquez-Castro A. Direct (1O_2) optical excitation: A tool for redox biology. *Redox Biol.* 2017; 13: 39-59.
20. Jockusch S., Turro N.J., Thompson E.K., Gouterman M., Callis J.B., Khalil G.E. Singlet molecular oxygen by direct excitation. *Photochemical & Photobiological Sciences.* 2008; 7(2): 235-9.
21. Krasnovsky A.A., Kozlov A.S., Roumbal Y.V. Photochemical investigation of the IR absorption bands of molecular oxygen in organic and aqueous environment. *Photochemical & Photobiological Sciences.* 2012; 11(6): 988-97.
22. Krasnovsky A.A., Kozlov A.S. Photonics of dissolved oxygen molecules. Comparison of the rates of direct and photosensitized excitation of oxygen and reevaluation of the oxygen absorption coefficients. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry.* 2016; 329: 167-74.
23. Young R.H., Brewer D., Keller R.A. Determination of rate constants of reaction and lifetimes of singlet oxygen in solution by a flash photolysis technique. *Journal of the American Chemical Society.* 1973; 95(2): 375-9.
24. So Sokolovski S.G., Zolotovskaya S.A., Goltsov A., Pourreyon C., South A.P., Rafailov E.U. Infrared laser pulse triggers increased singlet oxygen production in tumour cells. *Scientific Reports.* 2013; 3(1): 3484.
25. Saenko Y.V., Glushchenko E.S., Zolotovskii I.O., Sholokhov E., Kurkov A. Mitochondrial dependent oxidative stress in cell culture induced by laser radiation at 1265 nm. *Lasers Med Sci.* 2016; 31(3): 405-13.

26. Anquez F., El Yazidi-Belkoura I., Randoux S., Suret P., Courtade E. Cancerous cell death from sensitizer free photoactivation of singlet oxygen. *Photochem Photobiol.* 2012; 88(1): 167-74.

27. Novikova I.N., Potapova E.V., Dremmin V.V., Dunaev A.V., Abramov A.Y. Laser-induced singlet oxygen selectively triggers oscillatory mitochondrial permeability transition and apoptosis in melanoma cell lines. *Life Sciences.* 2022; 304: 120720.

28. Dremmin V., Novikova I., Rafailov E. Simulation of thermal field distribution in biological tissue and cell culture media irradiated with infrared wavelengths. *Opt Express.* 2022; 30(13): 23078-89.

29. Bregnbøj M., Blázquez-Castro A., Westberg M., Breitenbach T., Ogilby P.R. Direct 765 nm Optical Excitation of Molecular Oxygen in Solution and in Single Mammalian Cells. *The Journal of Physical Chemistry B.* 2015; 119(17): 5422-9.

30. Blázquez-Castro A., Breitenbach T., Ogilby P.R. Cell cycle modulation through subcellular spatially resolved production of singlet oxygen via direct 765 nm irradiation: manipulating the onset of mitosis. *Photochemical & Photobiological Sciences.* 2018; 17(10): 1310-8.

31. Dolgova D., Abakumova T., Gening T., Poludnyakova L., Zolotovskii I., Stoliarov D., et al. Anti-inflammatory and cell proliferative effect of the 1270 nm laser irradiation on the BALB/c nude mouse model involves activation of the cell antioxidant system. *Biomed Opt Express.* 2019; 10(8): 4261-75.

32. Kasbiwagi S., Brauns T., Gelfand J., Poznansky M.C. Laser vaccine adjuvants. History, progress, and potential. *Hum Vaccin Immunother.* 2014; 10(7): 1892-907.

33. Kasbiwagi S., Yuan J., Forbes B., Hibert M.L., Lee E.L.Q., Whicher L., et al. Near-Infrared Laser Adjuvant for Influenza Vaccine. *PLOS ONE.* 2013; 8(12): e82899.

34. Kimizuka Y., Katagiri W., Locascio J.J., Shigeta A., Sasaki Y., Shibata M., et al. Brief Exposure of Skin to Near-Infrared Laser Modulates Mast Cell Function and Augments the Immune Response. *J Immunol.* 2018; 201(12): 3587-603.

35. Katagiri W., Lee G., Tanushi A., Tsukada K., Choi H.S., Kasbiwagi S. High-throughput single-cell live imaging of photobiomodulation with multispectral near-infrared lasers in cultured T cells. *J Biomed Opt.* 2020; 25(3): 1-18.

36. Yokomizo S., Katagiri W., Maki Y., Sano T., Inoue K., Fukushi M., et al. Brief exposure of skin to near-infrared laser augments early vaccine responses. *Nanophotonics.* 2021; 10(12): 3187-97.

37. Gelfand J.A., Nazarian R.M., Kasbiwagi S., Brauns T., Martin B., Kimizuka Y., et al. A pilot clinical trial of a near-infrared laser vaccine adjuvant: safety, tolerability, and cutaneous immune cell trafficking. *Faseb j.* 2019; 33(2): 3074-81.