

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ *IN VIVO* ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ И РАДИОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ, ИХ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Д.А. Церковский¹, Д.И. Козловский¹, А.Н. Мазуренко¹, Н.Д. Адаменко², Ф.Ф. Боричевский³

¹Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, аг. Лесной, Республика Беларусь

²Витебский государственный университет им. П.М. Машерова, г. Витебск, Республика Беларусь

³Минская областная клиническая больница, аг. Лесной, Республика Беларусь

Резюме

В рамках пилотного исследования авторами изучена противоопухолевая эффективность фотодинамической терапии (ФДТ) в комбинации с радиодинамической терапией (РДТ) в эксперименте *in vivo* на модели подкожно перевитой лимфосаркомы Плисса (ЛСП) у крыс. Фотосенсибилизатор (ФС) на основе хлорина е6 вводили внутривенно в дозе 2,5 мг/кг массы тела. Сеанс РДТ проводили на установке для контактной лучевой терапии (КЛТ) однократно через 2,5–3 ч после окончания введения ФС с использованием γ -излучения (^{192}Ir) в разовой очаговой дозе 6 Гр. Сеанс ФДТ осуществляли однократно непосредственно после воздействия ионизирующим излучением с помощью полупроводникового лазера «PDT diode laser» (ООО «Imaf Axicon», Беларусь, $\lambda=660\pm 5$ нм) со световой дозой 100 Дж/см², плотностью мощности 0,2 Вт/см² и мощностью 0,353 Вт. Все крысы были разделены на 4 группы по 6–7 особей в каждой: интактный контроль (ИК), ФС + ФДТ, ФС + КЛТ, ФС + КЛТ + ФДТ. Критерии оценки противоопухолевой эффективности: средний объем опухолей (V_{cp} , см³), коэффициент абсолютного прироста опухоли (К, в относительных единицах (ОЕ)), показатель торможения роста опухоли (ТРО, %), частота полной регрессии опухоли (ПР, %), доля излеченных крыс (%), показатель увеличения продолжительности жизни (УПЖ, %). Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. На 18-е сут. эксперимента V_{cp} в группах составил 63,25 $\pm$ 2,76 см³; 29,03 $\pm$ 6,06 см³ ($p=0,0002$); 22,18 $\pm$ 5,94 см³ ($p < 0,0001$); 11,76 $\pm$ 3,29 см³ ($p=0,0000$), соответственно. Коэффициенты К – 4516,86 ОЕ; 2638,09 ОЕ; 2024,45 ОЕ; 979,00 ОЕ. Показатель ТРО – 54,10% (ФС + ФДТ); 64,93% (ФС + КЛТ); 81,41% (ФС + КЛТ + ФДТ). Показатель УПЖ – 48,57% (ФС + ФДТ); 60,00% (ФС + КЛТ); 97,71% (ФС + КЛТ + ФДТ). На 60-е и 90-е сутки эксперимента частота ПР и доля излеченных крыс были одинаковыми и составили в группах 0%; 16,7%; 14,3% и 28,6%, соответственно. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности и актуальности дальнейших исследований в этом научном направлении.

Ключевые слова: экспериментальное исследование, крысы, перевивные опухоли, фотодинамическая терапия, радиодинамическая терапия, фотосенсибилизатор.

Контакты: Церковский Д.А., tzerkovsky@mail.ru

Для цитирования: Церковский Д.А., Козловский Д.И., Мазуренко А.Н., Адаменко Н.Д., Боричевский Ф.Ф. Экспериментальные исследования *in vivo* противоопухолевой эффективности фотодинамической и радиодинамической терапии, их сочетанного применения // Biomedical Photonics. – 2023. – Т. 12, № 2. – С. 24–33. doi: 10.24931/2413-9432-2023-12-2-24-33.

EXPERIMENTAL *IN VIVO* STUDIES OF THE ANTITUMOR EFFICACY OF PHOTODYNAMIC AND RADIODYNAMIC THERAPY AND THEIR COMBINATIONS

Tzerkovsky D.A.¹, Kozlovsky D.A.¹, Mazurenko A.N.¹, Adamenko N.D.², Borichevsky F.F.³

¹N.N. Alexandrov National Cancer Center of Belarus, Lesnoy, Republic of Belarus

²Vitebsk State University named after P.M. Masherov, Vitebsk, Republic of Belarus

³Minsk Regional Clinical Hospital, Lesnoy, Republic of Belarus

Abstract

The authors studied the antitumor efficacy of photodynamic therapy (PDT) in combination with radiodynamic therapy (RDT) in an *in vivo* experiment. The study was approved by the Ethics Committee of the N.N. Alexandrov National Cancer Center of Belarus (protocol dated February 25, 2022, № 180). The work was performed on 26 white non-linear rats weighing 200 $\pm$ 50 g. Pliss lymphosarcoma (PLS) was used as a tumor model, which was transplanted subcutaneously. Photosensitizer (PS) «Photolon» (RUE «Belmedpreparaty», Belarus) was administered intravenously at a dose of 2.5 mg/kg of body weight. The RDT session was performed by the contact method (CRT) once 2.5–3 times after the end of the infusion of the PS on the «microSelectron-HDR V3 Digital apparatus» (Elekta, Sweden) using γ -radiation (^{192}Ir) in a single focal dose 6 Gy. A PDT session was performed once immediately after exposure to ionizing radiation using a «PDT diode laser» (ООО Imaf Axicon, Belarus, $\lambda=660\pm 5$ nm) at an exposure dose of 100 J/cm² with a power density of 0.2 W/cm² and a power of 0.353 watts. All rats were divided into 4 groups of 6–7 animals each: intact control (IC), PS + PDT, PS + CRT, PS + CRT + PDT. The criteria for evaluating antitumor efficacy were: the average volume of tumors (V_{av} , cm³), the coefficient of absolute growth of tumors (K, in OE), the coefficient of tumor growth inhibition (TGI, %), the frequency of complete tumor regressions (CR, %), the proportion of cured rats (%), an increase in the

average duration of dead rats (%). Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. On the 18th day of the experiment, V_{av} in groups was $63.25 \pm 2.76 \text{ cm}^3$; $29.03 \pm 6.06 \text{ cm}^3$ ($p = 0.0002$); $22.18 \pm 5.94 \text{ cm}^3$ ($p < 0.0001$); $11.76 \pm 3.29 \text{ cm}^3$ ($p = 0.0000$), respectively. Coefficients $K - 4516.86 \text{ OE}$; 2638.09 OE ; 2024.45 OE ; 979.00 OE . TGI coefficients – 54.10% (PS + PDT); 64.93% (PS + CRT); 81.41% (PS + CRT + PDT). An increase in the average duration of dead rats indicator – 48.57% (PS + PDT); 60.00% (PS + CRT); 97.71% (PS + CRT + PDT). On the 60th and 90th days of the experiment, the frequency of PR and the proportion of cured rats were the same and amounted to 0%; 16.7%; 14.3% and 28.6%, respectively. The results obtained indicate the prospects and relevance of further research in this scientific direction.

Key words: experimental research, rats, transplanted tumors, photodynamic therapy, radiodynamic therapy, photosensitizer.

Contacts: Tzerkovsky D.A., e-mail: tzerkovsky@mail.ru

For citations: Tzerkovsky D.A., Kozlovsky D.A., Mazurenko A.N., Adamenko N.D., Borichevsky F.F. Experimental *in vivo* studies of the anti-tumor efficacy of photodynamic and radiodynamic therapy and their combinations, *Biomedical Photonics*, 2023, vol. 12, no. 2, pp. 24–33. doi: 10.24931/2413–9432–2023–12-2-24–33.

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – метод лечения предопухолевых заболеваний и злокачественных новообразований (ЗНО), эффективность которого доказана и подтверждена результатами многочисленных доклинических исследований на клеточных культурах и лабораторных животных с перевивными опухолями, а также клинических, в том числе многоцентровых рандомизированных исследований, включающих значительное количество пациентов с различными нозологическими формами онкологической патологии [1, 2]. В основе ФДТ лежит использование специальных препаратов – фотосенсибилизаторов (ФС), активация которых в патологически измененных тканях реализуется за счет воздействия лазерным излучением с определенной длиной волны [3, 4, 5]. В последние годы в рамках научных проектов активно изучается возможность использования других физических факторов, таких как ультразвук (сонодинамическая терапия), гипертермия (термодинамическая терапия), электрические поля (электродинамическая терапия) и ионизирующее излучение (радиодинамическая терапия) в качестве путей запуска сложных физико-химических реакций на молекулярном и клеточном уровнях, приводящих к переходу молекул ФС в возбужденное состояние подобно ФДТ, с последующей деструкцией опухолевых клеток [6, 7, 8].

С целью повышения противоопухолевой эффективности ФДТ целесообразным является комбинированное и сочетанное применение метода с традиционными подходами к лечению ЗНО, в частности, с лучевой терапией (ЛТ) [9, 10]. Сочетанное применение ФДТ и РДТ дает возможность использования субтерапевтических режимов лазерного и ионизирующего излучений, применение которых приводит к увеличению эффекта каждого из методов терапии за счет синергетического воздействия со значительным уменьшением риска возникновения ряда нежелательных реакций, имеющих место при применении высоких доз указанных физических факторов в первую очередь ЛТ.

Материалы и методы

Лабораторные животные

Пилотное исследование выполнено на 26 белых нелинейных беспородных крысах-самцах, полученных из вивария РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, с массой тела $200 \pm 50 \text{ г}$, в возрасте 2,5–3 мес. Длительность карантина перед включением в эксперимент составляла 14 сут. Крыс содержали в стандартных условиях пищевого и питьевого рациона *ad libitum*, при 12-часовом режиме освещения, температуре $20\text{--}22^\circ\text{C}$ и влажности 50–60% в индивидуальных клетках по 6–7 особей в каждой. Условия содержания крыс в лаборатории, показатели влажности, температуры, освещенности в помещении соответствовали действующим санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию вивариев (Санитарные правила и нормы 2.1.2.12-18-2006 «Устройство, оборудование и содержание экспериментально-биологических клиник (вивариев)», Постановление Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь, от 31.10.2006 г. № 131) и Межгосударственными стандартами: ГОСТ 33216-2014 («Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами» и ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур», утвержденными Постановлением Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации, протокол от 22.12.2014 г., № 73-П).

Опухолевый штамм

В качестве опухолевого штамма использовали лимфосаркому Плисса (ЛСП), полученную в виде клеточной культуры (Российская коллекция клеточных культур, Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация).

Опухолевая модель

Клеточную культуру ЛСП инокулировали крысам подкожно и поддерживали пассивированием *in vivo*. Подкожная перевивка включала введение под кожу

левой паховой области 0,5 мл взвеси опухолевых клеток в 20% растворе Хенкса, полученных после взятия и гомогенизации кусочков опухоли от крысы-донора. ЛСП относится к числу быстрорастущих опухолей с коротким латентным периодом, в связи с этим, крыс с ЛСП включали в эксперимент на 6-е сут. после перевивки по достижению диаметра опухолевого узла 3–5 мм.

Этические аспекты

Экспериментальные исследования были проведены в соответствии с международным законодательством и действующими в Республике Беларусь нормативными правовыми актами по проведению экспериментальных исследований с лабораторными животными, а именно:

1. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (г. Страсбург, Франция, от 18.03.1986 г.) с изменениями в соответствии с положениями Протокола (СЕД № 170 от 02.12.2005 г.).

2. Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях (от 22.09.2010 г.).

3. ТКП 125–2008 «Надлежащая лабораторная практика» (GLP) (постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 г.).

Характер выполняемых исследований соответствовал принципам «3Rs», разработанным W.M. Russel и R.L. Berch (1959 г.), а именно:

1) «Reduction» – сокращение количества используемых лабораторных животных в эксперименте.

2) «Refinement» – усовершенствование методики проведения эксперимента за счет применения обезболивающих и нетравматических методов.

3) «Replacement» – замена (переход от исследований на животных к методам, не использующим живых существ).

Крыс перед облучением вводили в наркоз (нейролептаналгезия: 0,005% раствор фентанила + 0,25% раствор дроперидола в соотношении 2:1, внутримышечно по 0,2 мл на 100 г массы тела). После окончания периода наблюдения за крысами их умерщвление выполняли с помощью общепринятых методов эвтаназии (*aether pro narcosi*) с соблюдением гуманных методов обращения с лабораторными животными.

Выполнение исследования одобрено Комитетом по этике РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова (выписка из протокола от 25.02.2022 г. № 180).

Фото- и радиосенсибилизатор

В качестве лекарственного средства использовали инъекционную форму ФС на основе хлорина еб фотолон (РУП «Белмедпрепараты», г. Минск, Республика Беларусь, регистрационный номер 16/11/886 от 08.11.2016 г., 100 мг). Перед использованием поро-

шок ФС разводили 0,9% раствором хлорида натрия и вводили однократно путем внутривенной инфузии в хвостовую вену крысы в условиях затемненного помещения в дозе 2,5 мг/кг массы тела.

Радиодинамическая терапия

Облучение перевивных опухолей осуществляли контактным методом (контактная лучевая терапия, (КЛТ)) на аппарате «microSelectron-HDR V3 Digital» (Elekta, Швеция) с использованием γ -излучения (^{192}Ir). Источник имел высокую активность, составившую 5,2 Ci на момент начала экспериментов. Это обусловило необходимые для крыс, находящихся в состоянии медикаментозного сна, высокую мощность дозы и короткую продолжительность сеансов облучения. Для проведения КЛТ на область перевивной опухоли использовался аппликатор Leipzig, фиксировавшийся на поверхности опухоли с помощью мягких резиновых держалок. Облучение проводили однократно в разовой очаговой дозе (РОД) 6 Гр, что эквивалентно 10,8 Гр при $\alpha/\beta = 3$, через 2,5–3 ч после окончания инфузии. Расчет времени сеанса облучения проводили на системе планирования «Oncentra Brachy v4.5.2» (Elekta, Швеция) на пустой серии изображений с использованием алгоритма TG-43 без учета отражения и рассеивания излучения внутри аппликатора. Использовали методику КЛТ с нормализацией на точку, расположенную на расстоянии 5 мм от терапевтической поверхности аппликатора, в соответствии с размером мишени и рекомендациями GEC-ESTRO ACROP и другими. Используемая методика облучения позволила подвести запланированные РОД на мишень без переоблучения нормальных тканей.

Фотодинамическая терапия

Сеансы ФДТ осуществляли однократно непосредственно после воздействия ионизирующим излучением (КЛТ) с помощью полупроводникового лазера «PDT diode laser» (ООО «Imaf Axicon», г. Минск, Республика Беларусь) с длиной волны излучения 660 ± 5 нм. Облучение перевивных опухолей начинали через 2,5–3 ч после окончания инфузии ФС со световой дозой 100 Дж/см², плотностью мощности 0,2 Вт/см² и мощностью 0,353 Вт. Продолжительность воздействия составила 8 мин.

Дизайн экспериментального исследования

Все воздействия производили на 6-е сутки после перевивки ЛСП по достижению диаметра опухолевого узла не менее 3–5 мм. Все животные, 26 крыс-самцов включенных в исследование, были случайным образом распределены на 4 группы по 6–7 особей в каждой. В качестве интактного контроля (ИК) выступали крысы с перевивными опухолями, которым не вводили ФС и не осуществляли никакого облучения (табл. 1).

Таблица 1

Дизайн экспериментального исследования

Table 1

Experimental study design

Наименование группы Study groups	Число крыс в группе, n Number of rats in the group, n
ИК Intact control	6
ФС 2,5 мг/кг + КЛТ РОД 6 Гр PS 2.5 mg/kg + CRT SFD 6 Gy	7
ФС 2,5 мг/кг + ФДТ 100 Дж/см ² 0,2 Вт/см ² PS 2.5 mg/kg + PDT 100 J/cm ² 0.2 W/cm ²	6
ФС 2,5 мг/кг + КЛТ РОД 6 Гр + ФДТ 100 Дж/см ² 0,2 Вт/см ² PS 2.5 mg/kg + CRT SFD 6 Gy + PDT 100 J/cm ² 0.2 W/cm ²	7

* ФС – фотосенсибилизатор; КЛТ – контактная лучевая терапия;
РОД – разовая очаговая доза; ФДТ – фотодинамическая терапия.
* PS – photosensitizer; CRT – contact radiotherapy; SFD – single focal
dose; PDT – photodynamic therapy.

Критерии оценки противоопухолевой эффективности

Оценку противоопухолевой эффективности воздействий осуществляли по общепринятым в экспериментальной онкологии показателям, характеризующим динамику изменения среднего объема опухолей (V_{cp} , см³), по изменению коэффициента абсолютного прироста опухоли (K) и показателю торможения роста опухоли (ТРО, %). Динамику роста перевивных опухолей регистрировали, начиная с 6-х сут. после перевивки опухолевого штамма ЛСП в течение 2 нед с интервалом 2–3 сут.

Объем опухолей вычисляли по формуле Шрека (1):

$$V = \frac{1}{6} \pi \times d_1 \times d_2 \times d_3$$

где:

$d_{1,2,3}$ – три взаимно перпендикулярных диаметра опухоли (в см);

$\pi/6 = 0,52$ – постоянная величина;

V – объем опухоли (в см³).

Коэффициент абсолютного прироста опухоли (K) рассчитывали по формуле (2):

$$K = \frac{V_t - V_0}{V_0}$$

где:

V_0 – исходный объем опухоли (до начала воздействий);

V_t – объем опухоли на определенный срок наблюдения.

Значение показателя $K > 0$ (V на соответствующем сроке наблюдения превышал его исходное значение) расценивали как продолженный рост опухоли; $-1 < K < 0$ (V на соответствующем сроке наблюдения был меньше его исходного значения) как торможение

роста опухоли; $K = -1$ как полную регрессию опухоли.

Коэффициент торможения роста опухоли (ТРО) рассчитывали по формуле (3):

$$TPO\% = \frac{V_{контроля} - V_{опыта}}{V_{контроля}} \times 100$$

где:

$V_{контроль}$ – средний объем опухоли в контрольной группе (в см³);

$V_{опыт}$ – средний объем опухоли в основной группе (в см³).

Минимально значимым критерием, демонстрирующим эффективность лечения перевивных опухолей, считали $TPO > 50\%$.

Частоту полных опухолевых регрессий (ПР) оценивали через 60 сут. после окончания воздействий по отсутствию визуальных и пальпаторных признаков опухолевого роста.

Долю излеченных крыс в группах определяли через 90 сут. после окончания воздействий по отсутствию визуальных и пальпаторных признаков опухолевого роста.

Количественные критерии оценки ингибирующего эффекта на перевивных опухолях у крыс были следующими (табл. 2) [11].

Оценку противоопухолевого эффекта по увеличению продолжительности жизни проводили по окончании эксперимента и гибели всех крыс. Определяли среднюю продолжительность жизни (СПЖ, сут) в группах и вычисляли показатели увеличения продолжительности жизни (УПЖ, %) по формуле (4):

$$УПЖ\% = \frac{СПЖ_{опыта} - СПЖ_{контроля}}{СПЖ_{контроля}} \times 100$$

где:

УПЖ – показатель увеличения продолжительности жизни павших крыс (%);

СПЖ опыта – средняя продолжительность жизни павших крыс в опытных группах (сут);

СПЖ контроля – средняя продолжительность жизни павших крыс в контрольной группе (сут).

Статистическая обработка полученных данных

Статистическую обработку результатов (V_{cp} , K и ТРО) проводили с помощью пакетов прикладных программ Excel, Origin Pro (версия 7.0) и Statistica (версия 10.0). Данные представлены как $M \pm m$ (среднее значение $\pm$ ошибка среднего значения). Для оценки достоверности различий использовали U критерий Манна-Уитни. Общую выживаемость оценивали с использованием непараметрического метода Каплана-Майера. За точку 0 принимали дату перевивки опухоли, событием считали гибель крысы, окончанием наблюдения – гибель всех крыс в опытной группе. Сравнительный анализ данных проводили с помощью непараметри-

Таблица 2

Критерии оценки противоопухолевой эффективности по коэффициенту торможения роста опухоли и частоте полных регрессий

Table 2

Criteria for evaluating antitumor efficacy in terms of the coefficient of tumor growth inhibition and the frequency of complete regressions

Критерии противоопухолевой эффективности Criteria of antitumor efficacy	Значения эффективности Values efficiency
TPO < 20% TGI < 20%	0
TPO < 20–50% TGI < 20–50%	±
TPO < 51–80% TGI < 51–80%	+
TPO < 81–90% TGI < 81–90%	++
TPO < 91–100% + < 50% ПР TGI < 91–100% + CR < 50%	+++
TPO > 91–100% + > 50% ПР TGI > 91–100% + CR > 50%	++++

* ТРО – коэффициент торможения роста опухоли; ПР – полная регрессия.

* TGI – tumor growth inhibition; CR – complete regression.

ческого лог–ранк теста. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Прививаемость опухолевого штамма составила 100% (все 26 крыс на момент начала терапевтических воздействий, то есть на 6-е сут после перевивки, имели визуальные и пальпаторные признаки опухолевого роста).

Побочных реакций и осложнений, связанных с внутривенным введением ФС, проведением сеансов ФДТ и КЛТ, зарегистрировано не было.

В эксперименте оценивали противоопухолевую эффективность метода комбинированной терапии перевивных опухолей, включающего системное (внутривенное) введение ФС на основе хлорина еб с последующим однократным воздействием ионизирующим излучением в РОД 6 Гр и лазерным излучением со световой дозой 100 Дж/см² с плотностью мощности 0,2 Вт/см² в сравнении с каждым из компонентов метода (ФС + КЛТ, ФС + ФДТ) и ИК.

Как видно из табл. 3, в течение всего срока оценки показателей, характеризующих изменение динамики роста перевивных опухолей, отмечено его статистически значимое торможение как в группе комбинированной терапии, так и в группах с терапией в монорежиме (ФС + ФДТ и ФС + КЛТ), по сравнению с группой ИК ($p < 0,05$).

На 18-е сутки эксперимента $V_{ср.}$ в группе комбинированной терапии был статистически значимо меньше по сравнению с группами ИК (в 5,38 раза ;

$p = 0,00001$) и ФС + ФДТ (в 2,47 раза; $p = 0,025$) и имел тенденцию к уменьшению по сравнению с группой ФС + КЛТ (в 1,89 раза; $p = 0,15$).

Противоопухолевая эффективность воздействий по полуколичественной шкале оценки [11] представлена в табл. 4.

Показатели выживаемости крыс (табл. 5) свидетельствуют о высокой противоопухолевой эффективности разработанного метода комбинированной терапии: достигнуто статистически значимое УПЖ по сравнению с ИК и отмечена тенденция к оптимизации исследуемых показателей по сравнению с каждым из компонентов метода ($p = 0,12$ в группе ФС + ФДТ; $p = 0,24$ в группе ФС + КЛТ).

Таким образом, разработанный метод комбинированной терапии, включающий внутривенное введение ФС на основе хлорина еб в дозе 2,5 мг/кг массы тела с последующим через 2,5–3 ч однократным сеансом КЛТ в РОД 6 Гр и ФДТ со световой дозой 100 Дж/см² и плотностью мощности 0,2 Вт/см², продемонстрировал высокую противоопухолевую эффективность. На 18-е сут после сеанса лечения животных коэффициент К составил 979,00 ОЕ; величина ТРО по сравнению с ИК – 81,41%. На 60-е и 90-е сут частоты ПР и излеченности составили 28,6% и 28,6%, показатели СПЖ и УПЖ – $34,60 \pm 3,75$ сут и 97,71%, соответственно. Эффективность воздействия по полуколичественной шкале оценки составила «+++».

Обсуждение

Как было отмечено, в последние годы активно изучается возможность использования таких физических факторов как ультразвук, гипертермия, электрические поля и некоторые другие в качестве триггерных механизмов активации молекулы ФС в патологически измененных клетках и тканях [6–8]. Одним из наиболее актуальных направлений научных исследований в экспериментальной и клинической онкологии является РДТ – метод лечения ЗНО, основанный на комбинированном применении ФС, их производных и ионизирующего излучения с определенными параметрами. ФС, традиционно используемые для ФДТ, могут обладать радиосенсибилизирующими свойствами и в этом случае рассматриваться как радиосенсибилизирующие агенты, повышающую противоопухолевую эффективность ЛТ. Известно, что физиология опухолей характеризуется незначительным напряжением кислорода (гипоксия, аноксия), низким уровнем глюкозы и высоким содержанием лактата, интерстициальной гипертензией и внеклеточным ацидозом. Сосудистая сеть опухоли отличается выраженной пролиферацией эндотелиоцитов, что приводит к развитию дефектов структуры и функциональной несостоятельности микрокапилляров, в результате чего внутриопухолевый кровоток становится хаотичным

с наличием зон недостаточной васкуляризации. Гипоксические опухолевые клетки обладают повышенной устойчивостью к воздействию ионизирующего излучения и требуют использования высоких доз радиации, нивелирующих данный эффект, что может приводить к развитию лучевых реакций и повреждений окружающих опухоль нормальных тканей. Ключом к профилактике данной ситуации является применение радиосенсибилизаторов, модифицирующих противоопухолевую эффективность ЛТ (в частности, ФС), либо комбинации ЛТ с другими терапевтическими опциями (например, ФДТ) с использованием сниженных доз излучения [8, 9, 10, 12].

При интерпретации основных механизмов, лежащих в основе повреждения опухолевой клетки при

комбинированном применении ФС и ионизирующего излучения, авторы приходят к выводу, что ключевым звеном в реализации противоопухолевого эффекта РДТ является свободно-радикальное окисление, развивающееся вследствие воздействия излучения на находящуюся в клетке воду с последующим переводом молекулы ФС из основного состояния в возбужденное и образованием значительного количества свободных радикалов (активные формы кислорода – АФК) [13, 14]. Поглощая излучение, молекула ФС вступает в каскад реакций, что приводит к образованию в клетке гидроксильного радикала, супероксида аниона и синглетного кислорода, которые аккумулируются также вследствие лучевого радиолиза воды. В дальнейшем на уровне физико-химических процес-

Таблица 3

Данные о динамике роста перевивных опухолей в эксперименте на крысах с ЛСП

Table 3

Data on the growth dynamics of transplanted tumors in an experiment on rats with LSP

Наименование группы Groups	Сутки после перевивки Days after tumors transplantation					
	ИССЛЕДУЕМЫЕ КРИТЕРИИ: Средний объем, в см ³ (M±m) Коэффициент абсолютного прироста опухолей (K), в ОЕ Коэффициент торможения роста опухолей (ТРО), в % Уровень значимости различий по отношению к интактному контролю RESEARCH CRITERIA: Vav., cm3 (M±m) Coefficient of absolute tumor growth (K), relative units (RU) Coefficient of tumor growth inhibition (TGI), % P vs. intact control					
	6	9	11	13	15	18
ИК IC	0,014±0,001	1,23±0,19	10,29±0,71	19,85±0,65	47,19±0,74	63,25±2,76
	–	86,86	734,00	1416,86	3369,71	4516,86
	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–
ФС + КЛТ PS + CRT	0,011±0,002	0,33±0,13	1,46±0,51	3,88±1,15	15,92±4,58	22,18±5,94
	–	29,00	131,73	351,73	1446,27	2024,45
	–	73,17	85,81	80,45	66,26	64,93
	>0,05	0,0018	0,00000	0,00000	0,00001	0,00002
ФС + ФДТ PS + PDT	0,011±0,002	0,62±0,20	3,02±0,62	7,76±2,01	22,69±5,43	29,03±6,06
	–	55,36	273,55	704,45	2061,73	2638,09
	–	49,59	70,65	60,91	51,92	54,10
	>0,05	0,046	0,000002	0,00007	0,0005	0,0002
ФС + КЛТ + ФДТ PS + CRT + PDT	0,012±0,001	0,17±0,03	1,15±0,46	3,88±1,13	11,14±3,42	11,76±3,29
	–	13,17	94,83	322,33	927,33	979,00
	–	86,18	88,82	80,45	76,39	81,41
	>0,05	0,00008	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000

* ФС – фотосенсибилизатор; КЛТ – контактная лучевая терапия; ИК – интактный контроль; ФДТ – фотодинамическая терапия.

* PS – photosensitizer; CRT – contact radiotherapy; IC – intact control; PDT – photodynamic therapy.

сов возникают летальные повреждения клеточных компонентов: цитоплазматических мембран, гранулярной эндоплазматической сети, митохондрий, ДНК и других. Обладая высоким окислительным потенциалом, АФК взаимодействуют с липидами мембран органелл опухолевой клетки с образованием продуктов окисления, дестабилизацией и последующим разрушением клетки в целом. Следствием вышеуказанных реакций на осуществленное комбинированное воздействие является окислительный стресс-синдром, индуцирующий апоптоз [15].

В доступных литературных источниках встречаются немногочисленные публикации, посвященные изучению радиодинамической активности ФС на основе протопорфирина IX, гематопорфирина и его производных в экспериментах *in vitro/in vivo*: глиомы с6 и U-373 MG, глиосаркома 9L; плоскоклеточная карци-

нома пищевода человека OE-21, аденокарцинома пищевода человека OE-33; карцинома мочевого пузыря человека RT4 и аденокарцинома толстого кишечника HT-29 [13, 14, 16–18]. Авторы сообщают о статистически значимом сокращении числа жизнеспособных опухолевых клеток и торможении роста перевивных опухолей в группах комбинированной терапии по сравнению с ЛТ в монорежиме.

Panetta J.V. и соавт. из Fox Chase Cancer Center (США) представили результаты применения РДТ с протопорфирином IX у мышей с ортотопической моделью карциномы предстательной железы человека PC 3. 5-АЛК, вызывающую образование эндогенного ФС протопорфирина IX, вводили перорально в дозе 100 мг/кг массы тела за 4 ч до начала облучения области подкожно перевитых опухолей. Облучение осуществляли в РОД 4 Гр однократно. Через 7 и 14 сут

Таблица 4

Критерии оценки противоопухолевой эффективности по коэффициенту торможения роста опухоли и частоте полных регрессий

Table 4

Criteria for evaluating antitumor efficacy in terms of the coefficient of tumor growth inhibition and the frequency of complete regressions

Наименование группы Groups	Критерии оценки эффективности противоопухолевой терапии Antitumor efficacy criteria		
	Показатель торможения роста опухолей (ТРО, %) Tumor growth inhibition coefficient TGI, %	Частота полных регрессий, % Frequency of complete regressions, %	Эффективность Efficacy
ИК IC	–	0,0	0
ФС + ФДТ PS + PDT	54,10	16,7	+++
ФС + КЛТ PS + CRT	64,93	14,3	+++
ФС + КЛТ + ФДТ PS + CRT + PDT	81,41	28,6	+++

* ФС – фотосенсибилизатор; КЛТ – контактная лучевая терапия; ИК – интактный контроль; ФДТ – фотодинамическая терапия.

* PS – photosensitizer; CRT – contact radiotherapy; IC – intact control; PDT – photodynamic therapy.

Таблица 5

Показатели выживаемости крыс после противоопухолевого лечения

Table 5

Rat survival rates after antitumor treatment

Наименование группы Groups	Критерии оценки эффективности Criteria for evaluating effectiveness		
	Средняя продолжительность жизни, сут Average life expectancy, days	Увеличение средней продолжительности жизни, % Increase in average life expectancy, %	p относительно ИК p vs. IC
ИК IC	17,50±2,16	–	–
ФС + ФДТ PS + PDT	26,00±3,48	48,57	0,058
ФС + КЛТ PS + CRT	28,00±3,86	60,00	0,034
ФС + КЛТ + ФДТ PS + CRT + PDT	34,60±3,75	97,71	0,0017

* ФС – фотосенсибилизатор; КЛТ – контактная лучевая терапия; ИК – интактный контроль; ФДТ – фотодинамическая терапия.

* PS – photosensitizer; CRT – contact radiotherapy; IC – intact control; PDT – photodynamic therapy.

от момента начала терапевтических воздействий по сравнению с группой ЛТ в монорежиме в группе РДТ средний объем опухолей был на $24 \pm 9\%$ и $21 \pm 8\%$ меньше, соответственно ($p < 0,05$) [19].

В более позднем исследовании D.M. Yang и соавт. (Fox Chase Cancer Center, США) доказали наличие радиосенсибилизирующих свойств у протопорфирина IX в эксперименте на линейных мышах C57BL/6 с перевитой подкожно опухолью мелкоклеточного рака легкого KP1. 5-АЛК вводили перорально в дозе 100 мг/кг массы тела за 4 ч до начала облучения подкожно перевитых опухолей, которое осуществляли однократно в РОД 4 Гр. Через 14 сут от момента начала лечения в группе РДТ было зарегистрировано торможение роста перевитых опухолей на 52,1%, 48,1% и 57,9% по сравнению с группой 5-АЛК ($p < 0,001$), ЛТ в монорежиме ($p < 0,001$) и ИК ($p < 0,001$), соответственно [20].

В исследовании Takahashi J. и соавт. (Health and Medical Research Institute, Япония) представлены результаты применения РДТ с протопорфирином IX глиобластом человека U251MG и U87MG у мышей BALB/c-nu/nu. 5-АЛК вводили перорально в дозах 60 и 120 мг/кг за 4 ч до начала облучения подкожно перевитых опухолей, которое проводили в РОД 2 Гр 5 раз в нед в течение 6 нед до достижения СОД 60 Гр. Авторы сообщают, что предложенная методика облучения оказывала выраженное угнетающее действие на рост обеих моделей перевитых опухолей в течение всего срока наблюдения (42 и 70 сут, соответственно), вызывая в опухолевой ткани развитие необратимых повреждений, зарегистрированных на основании морфологического исследования [12].

В экспериментах *in vivo* Y. Matsuyama и соавт. (Mie University Graduate School of Medicine, Япония) изучили влияние ионизирующего излучения на противоопухолевые свойства ФС акридин оранжевый (АО). В качестве объектов исследований авторы использовали линейных мышей C3H/HeSlc и BALB/cSlc-nu/nu с перевитыми опухолями следующих штаммов: остеосаркома мышей LM8, рак предстательной железы человека PC 3, рак молочной железы человека MDA-MB-231. АО вводили подкожно по периметру опухолей в дозе 1 мкг/мл. Облучение производили однократно в РОД 5 Гр. РДТ с АО продемонстрировала выраженный цитостатический эффект в отношении всех видов опухолей. Так, на 14-е сут после начала терапевтических воздействий средний объем опухолей LM8 в контрольной группе составил 890 мм³, АО – 780 мм³, ЛТ РОД 5 Гр – 120 мм³ и АО + ЛТ РОД 5 Гр – 42 мм³ ($p < 0,05$); для MDA-MB-231 – 1060, 620, 1010 и 29 мм³ ($p < 0,05$), для PC 3 – 530, 200, 45 и 14 мм³ ($p < 0,05$), соответственно [21].

И, наконец, С. Dupin и соавт. (Bordeaux Institute of oncology, Франция) представили опыт применения метода РДТ в эксперименте на иммунодефицитных

мышах RAGγ2C–/– с ортотопической моделью глиобластомы человека P3. В качестве фотосенсибилизирующего агента использовали 5-АЛК, которую вводили интраперитонеально в дозе 100 мг/кг массы тела. Облучение перевитых опухолей осуществляли 3 раза в неделю в следующих режимах: 3×2 Гр, 5×2 Гр и 5×3 Гр; 2,55 Гр/мин. На основании анализа полученных результатов по критерию выживаемости оптимальным воздействием было фракционированное облучение в режиме 5×3 Гр 3 раза в неделю (73–83 сут) vs. контроль (без воздействий) (15–24 сут), ЛТ 3×2 Гр (41–47 сут) и ЛТ 5×3 Гр (48–62 сут) ($p < 0,05$). В сравнительном аспекте отмечена тенденция к оптимизации показателей выживаемости в группе 5-АЛК + ЛТ 5×2 Гр (53–67 сут) к группе ЛТ 5×2 Гр ($p = 0,24$) [22].

Начаты несколько клинических испытаний на больших выборках пациентов с целью оценки безопасности и переносимости РДТ. Клиническое испытание «A Phase I Dose Finding Study Of Low-dose Radiation With Sensitization Using 5-aminolevulinic Acid In Advanced Malignancies», в основе которого лежит определение оптимальных доз ЛТ и ФС у пациентов с различными нозологическими формами ЗНО (солидные опухоли головы и шеи, грудной и брюшной полости, малого таза) начато Fox Chase Cancer Center (США) в июле 2020 г. В исследование планируется включение 130 пациентов. В качестве ФС используется 5-АЛК в 3 дозах. Облучение осуществляется фракционированно, курс терапии проводится однократно и составляет 21 день. В дальнейшем пациенты находятся под динамическим наблюдением в течение 56 сут с целью оценки частоты и степени выраженности нежелательных реакций, а также анализа предварительных данных о противоопухолевой эффективности метода [23].

Клиническое испытание «Phase I/II Dose Escalation Trial of Radiodynamic Therapy (RDT) With 5-Aminolevulinic Acid in Patients With First Recurrence of Glioblastoma» под руководством профессора Stummer W. (University Hospital Münster, Germany) начато в октябре 2022 г. Цель исследования – определение максимально переносимых доз ФС и ЛТ, оптимального числа сеансов РДТ. В исследование планируется включить 34 пациента с рецидивной формой глиобластомы (первый рецидив после комбинированного или комплексного лечения). В качестве ФС используется 5-АЛК. Облучение будет проводиться фракционированно. В качестве критериев противоопухолевой эффективности будут изучены показатели выживаемости пациентов (общая 6-месячная выживаемость, 6-месячная выживаемость без прогрессирования и другие) [24].

Анализ доступных литературных источников свидетельствуют о значительных перспективах данного направления в экспериментальной онкологии. Полученные в экспериментах *in vitro/in vivo* резуль-

таты позволяют сделать вывод о наличии у ряда ФС радиосенсибилизирующих свойств, что создает предпосылки для оптимизации и дальнейшего совершенствования комбинированной и комплексной терапии пациентов с ЗНО различных локализаций.

Заключение

ФДТ является методом терапии предопухолевых заболеваний и ЗНО, демонстрирующим высокую противоопухолевую эффективность в экспериментальной и клинической онкологии [25–27]. Тем не менее, с целью оптимизации применения ФДТ целесообразно ее комбинированное или сочетанное использование с рядом других методов терапии. Пилотные данные, полученные на основании анализа непосредственных и отдаленных результатов экспериментального исследования на моделях перевивных опухолей

у крыс, свидетельствуют о выраженной тенденции к более высокому противоопухолевому эффекту комбинированного лечения, включающего применение ФС с последующим проведением сеансов РДТ и ФДТ при однократном режиме облучения по сравнению с РДТ и ФДТ в монорежимах. Публикаций, посвященных изучению эффективности комбинированного применения ФС хлоринового ряда и указанных методов терапии, демонстрирующих положительные результаты, в доступных источниках литературы не представлено, что позволяет сделать вывод о необходимости и перспективности развития более глубоких исследований в данном направлении.

Работа выполнена при финансовой поддержке Национальной академии наук Беларуси (грант № 2021-61-284, задание 3.05.3).

ЛИТЕРАТУРА

1. Yanovsky R.L., Bartenstein D.W., Rogers G.S., Isakoff S.J., Chenet S.T. Photodynamic therapy for solid tumors: A review of the literature // *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* – 2019. – Vol. 35. – P. 295–303. doi: 10.1111/phpp.12489.
2. Gunaydin G., Gedik M.E., Ayan S. Photodynamic therapy for the treatment and diagnosis of cancer – a review of the current clinical status // *Front. Chem.* 2021. – Vol. 9. – P. e686303. doi:10.3389/fchem.2021.686303.
3. Castano A.P., Mroz P., Hamblin M.R. Photodynamic therapy and anti-tumour immunity // *Nature Reviews Cancer.* – 2006. – Vol. 6(7). – P. 535–545. doi: 10.1038/nrc1894.
4. Agostinis P., Berg K., Cengel K.A., Foster T.H., Girotti A.W., Gollnick S.O., Hahn S.M., Hamblin M.R., Juzeniene A., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Mroz P., Nowis D., Piette J., Wilson B.C., Golab J. Photodynamic therapy of cancer: an update // *CA-A Cancer J. Clin.* – 2011. – Vol. 61(4). – P. 250–281. doi: 10.3322/caac.20114.
5. 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. – P. e1332. doi:10.3390/pharmaceutics13091332.
6. Yang M., Yang T., Mao C. Enhancement of photodynamic cancer therapy by physical and chemical factors // *Angew Chem Int Ed Engl.* – 2019. – Vol. 58(40). – P. 14066–14080. doi:10.1002/anie.201814098.
7. Hu H., Feng W., Qian X., Yu L., Chen Y., Li Y. Emerging nanomedicine-enabled/enhanced nanodynamic therapies beyond traditional photodynamics. // *Adv. Mater.* – 2021. – Vol. 33(12). – P. e2005062. doi: 10.1002/adma.202005062.
8. Rodrigues J.A., Correia J.H. Enhanced photodynamic therapy: a review of combined energy sources // *Cells.* – 2022. – Vol. 11(24). – P. 3995. doi: 10.3390/cells11243995.
9. Larue L., Mihoub A.B., Youssef Z., Colombeau L., Acherar S., André J.C., Arnoux P., Baros F., Vermandel M., Frochot C. Using X-rays in photodynamic therapy: an overview // *Photochem. Photobiol. Sci.* – 2018. – Vol. 17(11). – P. 1612–1650. doi: 10.1039/c8pp00112j.
10. He L., Yu X., Li W. Recent progress and trends in X-ray-induced photodynamic therapy with low radiation doses // *ACS Nano.* – 2022. – Vol. 16(12). – P. 19691–19721. doi: 10.1021/acsnano.2c07286.
11. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. чл.-корр. РАН проф. Р. У. Хабриева. – 2 изд., перераб. и доп. – М.: ОАО «Издательство «Медицина». – 2005. – С. 647–649.
12. Takahashi J., Nagasawa S., Doi M., Takahashi M., Narita Y., Yamamoto J., Ikemoto M.J., Iwahashi H. In vivo study of the efficacy and

REFERENCES

1. Yanovsky R.L., Bartenstein D.W., Rogers G.S., Isakoff S.J., Chenet S.T. Photodynamic therapy for solid tumors: A review of the literature. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 2019, vol. 35, pp. 295–303. doi: 10.1111/phpp.12489.
2. Gunaydin G., Gedik M.E., Ayan S. Photodynamic therapy for the treatment and diagnosis of cancer – a review of the current clinical status. *Front. Chem.* 2021, vol. 9, pp. e686303. doi:10.3389/fchem.2021.686303.
3. Castano A.P., Mroz P., Hamblin M.R. Photodynamic therapy and anti-tumour immunity. *Nature Reviews Cancer*, 2006, vol. 6(7), pp. 535–545. doi: 10.1038/nrc1894.
4. Agostinis P., Berg K., Cengel K.A., Foster T.H., Girotti A.W., Gollnick S.O., Hahn S.M., Hamblin M.R., Juzeniene A., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Mroz P., Nowis D., Piette J., Wilson B.C., Golab J. Photodynamic therapy of cancer: an update. *CA-A Cancer J. Clin.* 2011, vol. 61(4), pp. 250–281. doi: 10.3322/caac.20114.
5. 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, p. e1332. doi:10.3390/pharmaceutics13091332.
6. Yang M., Yang T., Mao C. Enhancement of photodynamic cancer therapy by physical and chemical factors. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2019, vol. 58(40), pp. 14066–14080. doi:10.1002/anie.201814098.
7. Hu H., Feng W., Qian X., Yu L., Chen Y., Li Y. Emerging nanomedicine-enabled/enhanced nanodynamic therapies beyond traditional photodynamics. *Adv. Mater.* 2021, vol. 33(12), p. e2005062. doi: 10.1002/adma.202005062.
8. Rodrigues J.A., Correia J.H. Enhanced photodynamic therapy: a review of combined energy sources. *Cells*, 2022, vol. 11(24), p. 3995. doi: 10.3390/cells11243995.
9. Larue L., Mihoub A.B., Youssef Z., Colombeau L., Acherar S., André J.C., Arnoux P., Baros F., Vermandel M., Frochot C. Using X-rays in photodynamic therapy: an overview. *Photochem. Photobiol. Sci.* 2018, vol. 17(11), pp. 1612–1650. doi: 10.1039/c8pp00112j.
10. He L., Yu X., Li W. Recent progress and trends in X-ray-induced photodynamic therapy with low radiation doses. *ACS Nano*, 2022, vol. 16(12), pp. 19691–19721. doi: 10.1021/acsnano.2c07286.
11. Guidelines for the experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / under the general editorship of the corresponding member of the Russian Academy of Medical Sciences prof. R. U. Khabrieva. – 2nd ed., reprint. and additional – M.: JSC "Publishing House «Medicine», 2005, pp. 647–649.
12. Takahashi J., Nagasawa S., Doi M., Takahashi M., Narita Y., Yamamoto J., Ikemoto M.J., Iwahashi H. In vivo study of the efficacy and

- safety of 5-aminolevulinic radiodynamic therapy for glioblastoma fractionated radiotherapy // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – Vol. 22. – P. 1-15. doi:10.3390/ijms22189762.
13. Kulka U., Schaffer M., Siefert A. Photofrin as a radiosensitizer in an in vitro cell survival assay // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2003. – Vol. 311(1). – P. 98-103. doi: 10.1016/j.bbrc.2003.09.170.
14. Schaffer M., Kulka U., Ertl-Wagner B., Schaffer P.M., Friso E., Hell R., Jori G., Hofstetter A., Dühmke E. Effect of Photofrin II as a radiosensitizing agent in two different oesophageal carcinoma cell lines // *J. Porphyrins Phthalocyanines*. – 2005. – Vol. 9. – P. 470-475. doi:10.1142/S1088424605000587.
15. Benayoun L., Schaffer M., Bril R., Gingis-Velitski S., Segal E., Nevelsky A., Satchi-Fainaro R., Shaked Y. Porfimer-sodium (Photofrin II) in combination with ionizing radiation inhibits tumor-initiating cell proliferation and improves glioblastoma treatment efficacy // *Cancer Biol. Ther.* – 2013. – Vol. 14(1). – P. 64-74. doi: 10.4161/cbt.22630.
16. Schaffer M., Schaffer P.M., Corti L., Gardiman M., Sotti G., Hofstetter A., Jori G., Dühmke E. Photofrin as a specific radiosensitizing agent for tumors: studies in comparison to other porphyrins, in an experimental in vivo model // *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.* – 2002. – Vol. 66. – P. 157-164. doi: 10.1016/s1011-1344(02)00237-3.
17. Rutkovskienė L., Plėšnienė L., Sendiulienė D., Stančius A., Liutkevičiūtė-Navickienė J. Sensitization of rat C6 glioma cells to ionizing radiation by porphyrins // *Acta Medica Lituan.* – 2011. – Vol. 18(2). – P. 56-62. doi:10.6001/actamedica.v18i2.1816.
18. Yamamoto J., Ogura S.I., Tanaka T., Kitagawa T., Nakano Y., Saito T., Takahashi M., Akiba D., Nishizawa S. Radiosensitizing effect of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX in glioma cells in vitro // *Oncology Rep.* – 2012. – Vol. 27. – P. 1748-1752. doi: 10.3892/or.2012.1699.
19. Panetta J.V., Cvetkovic D., Chen X., Chen L., Charlie Ma C.M. Radiodynamic therapy using 15-MV radiation combined with 5-aminolevulinic acid and carbamide peroxide for prostate cancer in vivo // *Phys. Med. Biol.* – 2020. – Vol. 65(16). – P. 1-14. doi:10.1088/1361-6560/ab9776.
20. Yang D.M., Cvetkovic D., Chen L., Charlie Ma C.M. Therapeutic effects of in-vivo radiodynamic therapy (RDT) for lung cancer treatment: a combination of 15MV photons and 5-aminolevulinic acid (5-ALA) // *Biomed. Phys. Eng. Express*. – 2022. – Vol. 8(6). – P. 1-15. doi: 10.1088/2057-1976/ac9b5c.
21. Matsuyama Y., Nakamura T., Yoshida K., Hagi T., Iino T., Asanuma K., Sudo A. Radiodynamic therapy with acridine orange local administration as a new treatment option for primary and secondary bone tumours // *Bone Joint Res.* – 2022. – Vol. 11(10). – P. 715-722. doi: 10.1302/2046-3758.1110.BJR-2022-0105.R2.
22. Dupin C., Sutter J., Amintas S., Derieppe M.A., Lalanne M., Coulibaly S., Guyon J., Daubon T., Boutin J., Blouin J.M., Richard E., Moreau-Gaudry F., Bedel A., Vendrely V., Dabernat S. An orthotopic model of glioblastoma is resistant to radiodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid // *Cancers (Basel)*. – 2022. – Vol. 14(17). – P. 4244. doi: 10.3390/cancers14174244.
23. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04381806.
24. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT05590689.
25. Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Photodynamic therapy in the treatment of extramammary Paget disease // *Biomedical Photonics*. – 2022. – Vol. 11(3). – P. 24-34. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-3-24-34
26. Gilyadova A.V., Romanko Yu.S., Ishchenko A.A., Samoilova S.V., Shiryayev A.A., Alekseeva P.M., Efendiev K.T., Reshetov I.V. Photodynamic therapy for precancer diseases and cervical cancer (review of literature) // *Biomedical Photonics*. – 2021. – Vol. 10(4). – P. 59-67. doi: 10.24931/2413-9432-2021-10-4-59-67
27. Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Photodynamic therapy in the treatment of patients with mycosis fungoides // *Biomedical Photonics*. – 2022. – Vol. 11(1). – P. 27-36. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-1-27-37
- safety of 5-aminolevulinic radiodynamic therapy for glioblastoma fractionated radiotherapy. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, vol. 22, pp. 1-15. doi:10.3390/ijms22189762.
13. Kulka U., Schaffer M., Siefert A. Photofrin as a radiosensitizer in an in vitro cell survival assay. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2003, vol. 311(1), pp. 98-103. doi: 10.1016/j.bbrc.2003.09.170.
14. Schaffer M., Kulka U., Ertl-Wagner B., Schaffer P.M., Friso E., Hell R., Jori G., Hofstetter A., Dühmke E. Effect of Photofrin II as a radiosensitizing agent in two different oesophageal carcinoma cell lines. *J. Porphyrins Phthalocyanines*, 2005, vol. 9, pp. 470-475. doi:10.1142/S1088424605000587.
15. Benayoun L., Schaffer M., Bril R., Gingis-Velitski S., Segal E., Nevelsky A., Satchi-Fainaro R., Shaked Y. Porfimer-sodium (Photofrin II) in combination with ionizing radiation inhibits tumor-initiating cell proliferation and improves glioblastoma treatment efficacy. *Cancer Biol. Ther.*, 2013, vol. 14(1), pp. 64-74. doi: 10.4161/cbt.22630.
16. Schaffer M., Schaffer P.M., Corti L., Gardiman M., Sotti G., Hofstetter A., Jori G., Dühmke E. Photofrin as a specific radiosensitizing agent for tumors: studies in comparison to other porphyrins, in an experimental in vivo model. *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 2002, vol. 66, pp. 157-164. doi: 10.1016/s1011-1344(02)00237-3.
17. Rutkovskienė L., Plėšnienė L., Sendiulienė D., Stančius A., Liutkevičiūtė-Navickienė J. Sensitization of rat C6 glioma cells to ionizing radiation by porphyrins. *Acta Medica Lituan.*, 2011, vol. 18(2), pp. 56-62. doi:10.6001/actamedica.v18i2.1816.
18. Yamamoto J., Ogura S.I., Tanaka T., Kitagawa T., Nakano Y., Saito T., Takahashi M., Akiba D., Nishizawa S. Radiosensitizing effect of 5-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX in glioma cells in vitro. *Oncology Rep.*, 2012, vol. 27, pp. 1748-1752. doi: 10.3892/or.2012.1699.
19. Panetta J.V., Cvetkovic D., Chen X., Chen L., Charlie Ma C.M. Radiodynamic therapy using 15-MV radiation combined with 5-aminolevulinic acid and carbamide peroxide for prostate cancer in vivo. *Phys. Med. Biol.*, 2020, vol. 65(16), pp. 1-14. doi:10.1088/1361-6560/ab9776.
20. Yang D.M., Cvetkovic D., Chen L., Charlie Ma C.M. Therapeutic effects of in-vivo radiodynamic therapy (RDT) for lung cancer treatment: a combination of 15MV photons and 5-aminolevulinic acid (5-ALA). *Biomed. Phys. Eng. Express*, 2022, vol. 8(6), pp. 1-15. doi: 10.1088/2057-1976/ac9b5c.
21. Matsuyama Y., Nakamura T., Yoshida K., Hagi T., Iino T., Asanuma K., Sudo A. Radiodynamic therapy with acridine orange local administration as a new treatment option for primary and secondary bone tumours. *Bone Joint Res.*, 2022, vol. 11(10), pp. 715-722. doi: 10.1302/2046-3758.1110.BJR-2022-0105.R2.
22. Dupin C., Sutter J., Amintas S., Derieppe M.A., Lalanne M., Coulibaly S., Guyon J., Daubon T., Boutin J., Blouin J.M., Richard E., Moreau-Gaudry F., Bedel A., Vendrely V., Dabernat S. An orthotopic model of glioblastoma is resistant to radiodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid. *Cancers (Basel)*, 2022, vol. 14(17), p. 4244. doi: 10.3390/cancers14174244.
23. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04381806.
24. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT05590689.
25. Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Photodynamic therapy in the treatment of extramammary Paget disease. *Biomedical Photonics*, 2022, vol. 11(3), pp. 24-34. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-3-24-34
26. Gilyadova A.V., Romanko Yu.S., Ishchenko A.A., Samoilova S.V., Shiryayev A.A., Alekseeva P.M., Efendiev K.T., Reshetov I.V. Photodynamic therapy for precancer diseases and cervical cancer (review of literature). *Biomedical Photonics*, 2021, vol. 10(4), pp. 59-67. doi: 10.24931/2413-9432-2021-10-4-59-67
27. Filonenko E.V., Ivanova-Radkevich V.I. Photodynamic therapy in the treatment of patients with mycosis fungoides. *Biomedical Photonics*, 2022, vol. 11(1), pp. 27-36. doi: 10.24931/2413-9432-2022-11-1-27-37