

УДК 616-006.3.04-085.1.832.3-059:615.849.19

М.А. Каплан<sup>1</sup>, А.И. Малыгина<sup>1</sup>, Г.В. Пономарев<sup>2</sup>, А.А. Михайловская<sup>1</sup>,  
В.В. Дрозжжина<sup>1</sup>, Л.М. Архипова<sup>1</sup>, Ю.С. Осипчук<sup>1</sup>

**КОМБИНИРОВАННЫЙ МЕТОД ВОЗДЕЙСТВИЯ  
(ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ И ЛУЧЕВАЯ ТЕРАПИЯ)  
НА САРКОМУ М-1 КРЫС С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АМИДОАМИНХЛОРИНА**

<sup>1</sup>Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, Обнинск

<sup>2</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича», Москва

**Контактная информация**

Каплан Михаил Александрович, профессор, зав. отделом фотодинамической диагностики и терапии

адрес: 249036 Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, 4; тел. (48439) 9-30-26

e-mail: [kaplan@mrrc.obninsk.ru](mailto:kaplan@mrrc.obninsk.ru)

Статья поступила 20.07.2015, принята к печати 27.11.2015.

**Резюме**

Противоопухолевая терапия саркомы М-1 крыс проведена с использованием комбинированного метода лечения (фотодинамическая терапия и лучевая терапия) при различной последовательности ее проведения, при разных временных интервалах и параметрах лазерного облучения. Доза фотосенсибилизатора амидоаминхлорина и доза  $\gamma$ -излучения были одинаковыми во всех проведенных исследованиях. Цель исследования – изучить воздействие всех составляющих комбинированной терапии и определить оптимальные условия ее проведения для достижения значимого противоопухолевого эффекта по сравнению с монотерапией каждого из них. В результате исследований выявлено усиление ингибирующего эффекта при комбинированной терапии и найдены оптимальные параметры ее проведения.

**Ключевые слова:** саркома, фотосенсибилизатор, лазер,  $\gamma$ -излучение.

М.А. Kaplan<sup>1</sup>, А.И. Malygina<sup>1</sup>, G.V. Ponomarev<sup>2</sup>, А.А. Mikhailovskaya<sup>1</sup>,  
V.V. Drozhzhina<sup>1</sup>, L.M. Arkhipova<sup>1</sup>, J.S. Osipchuk<sup>1</sup>

**THE COMBINED METHOD  
OF EFFECT PHOTODYNAMIC THERAPY  
AND RADIAL THERAPY ON SARCOMA M-1 OF RATS**

<sup>1</sup>A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk

<sup>2</sup>Institute of biomedical chemistry of the Russian Academy of Medical Science, Moscow

**Abstract**

Antitumoral therapy of sarcoma M-1 of rats is spent with use of the combined method of treatment (photodynamic therapy and radial therapy) at various sequences of its carrying out, at different time intervals and parametres of a laser irradiation. A photosensitizing dose amidoaminchlorine and a gamma radiation dose were identical at all spent researches. The purpose: to study influence of all components of combined therapy and to define optimum conditions of its carrying out for achievement of significant antitumoral effect in comparison with monotherapy of each of them. As a result of researches intensifying of inhibiting effect is taped at complex therapy and optimum parametres of its carrying out are found.

**Key words:** a sarcoma, a photosensitizing, the laser, gamma radiation.

**Введение**

ФДТ является современным методом в лечении злокачественных опухолей [2; 3; 5; 14; 15; 17], основанным на способности ФС селективно накапливаться в ткани опухолей вследствие особенностей биохимии злокачественной клетки и при локальном воздействии лазерного облучения определенной длины волны генерировать образование синглетного кислорода и других активных радикалов, оказывающих цитотоксический эффект на

опухолевые клетки [4; 6–8]. Помимо прямого цитотоксического воздействия ФДТ на опухолевые клетки важное место в деструкции новообразования играют:

- нарушение кровоснабжения за счет повреждения эндотелия кровеносных сосудов опухолевой ткани;
- цитокиновые реакции, обусловленные стимуляцией продукции фактора некроза опухоли, активацией макрофагов, лейкоцитов и лимфоцитов.

Прогресс ФДТ опухолей связан с достижениями в создании эффективных ФС, обеспечивающих достаточный терапевтический эффект при минимальном повреждении окружающих здоровых тканей и отсутствии общетоксического действия. В настоящее время большой интерес в ФДТ злокачественных новообразований в качестве ФС вызывают производные ряда хлорофилла [9], одним из которых является ФС амидоаминхлорин (рис. 1), который разработан профессором Пономаревым Г.В. в Институте биомедицинской химии РАМН [10–13].

Амидоаминхлорин разработан на основе взаимодействия метилфеофорбида *a* с различными первичными аминами и является химической модификацией периферических заместителей хлорина еб. Характерной особенностью хлорина еб является тот факт, что, в зависимости от растворителя, его спектральные характеристики сильно варьируют. Так, известно, что в водных средах его максимум поглощения смещается в коротковолновую область <662 нм. Для экспериментальных исследований можно применять р-р в водном димексиде для внутрибрюшинного введения. Один из пиков поглощения находится на волне 662 нм, что коррелируется с высоким квантовым выходом синглетного кислорода (рис. 2).

Также методом лечения злокачественных новообразований является ЛТ; радиотерапия. Последняя является наиболее доступной. Это один из самых распространенных методов лечения рака [1; 16]. Опухолевые клетки оказались наиболее ранимыми, потому что их интенсивное деление делает клетки особенно чувствительными к воздействию радиации. В ходе такой терапии оказывается разрушительное воздействие на раковые клетки, останавливает процессы их деления и роста. Вместе с тем, сравнительно невысокие показатели местного лечения и побочные реакции после ЛТ диктуют необходимость поиска новых подходов к этому методу терапии.

С целью усиления противоопухолевого воздействия, а также с целью расширения сферы применения ФДТ как эффективного противоопухолевого, но щадящего органосохраняющего метода лечения, разработана схема комбинированной терапии, совмещающая ФДТ и ЛТ саркомы М-1.

**Цель исследования** – изучить воздействие всех составляющих комбинированной терапии и определить оптимальные условия ее проведения для достижения значимого противоопухолевого эффекта по сравнению с монотерапией каждого из них (наблюдение до 21 суток после лечения).

#### Задачи исследования

1. Провести оценку влияния последовательности проведения терапий (ФДТ + ЛТ или ЛТ + ФДТ);
2. провести оценку влияния временного интервала (24 или 48 ч);
3. провести оценку влияния разных параметров лазерного облучения ( $E = 150 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,34 \text{ Вт/см}^2$  или  $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$ ).

Доза ФС и доза  $\gamma$ -излучения были одинаковыми при всех проведенных исследованиях.

#### Материалы и методы

Исследования проведены на 119 беспородных крысах-самках. В качестве экспериментальной модели опухоли использовали саркому М-1, которую перевивали под кожу в область бедра в виде кусочков опухоли донора. В опыт крыс брали на 7–9 день, когда опухоль достигала 0,7–1,0 см в  $\varnothing$ , шерстный покров депилировали.

Комбинированную терапию проводили в различной последовательности (ФДТ + ЛТ или ЛТ + ФДТ) при различных временных интервалах (через 24 или 48 ч) и при разных параметрах лазерного облучения (плотность энергии ( $E$ )  $150 \text{ Дж/см}^2$  и плотность мощности ( $Ps$ )  $0,34 \text{ Вт/см}^2$  или  $300 \text{ Дж/см}^2$  и  $0,51 \text{ Вт/см}^2$ ).

Исследование проводили на небольших дозах ФС и гамма-излучения для снижения общетоксического воздействия.

ФДТ проводили локально однократно; в качестве ФС использовали амидоаминхлорин, который вводили внутрибрюшинно в дозе  $1,25 \text{ мг/кг}$  массы животного.

ЛТ проводили дистанционно (ДЛТ), расстояние по шкале 65 см, локально однократно с дозой облучения 20 Гр.

Проведено две серии опытов (I и II), различающихся по последовательности проведения комбинированной терапии:

*I серия опытов (ФДТ + ЛТ)* – четыре группы животных с различными интервалами времени и с разными параметрами лазерного облучения:

1. группа. ФДТ ( $E = 150 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,34 \text{ Вт/см}^2$ ) и через 24 ч. ЛТ;
2. группа. ФДТ ( $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$ ) и через 24 ч. ЛТ;
3. группа. ФДТ ( $E = 150 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,34 \text{ Вт/см}^2$ ) и через 48 ч. ЛТ;
4. группа. ФДТ ( $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$ ) и через 48 ч. ЛТ.

*II серия опытов (ЛТ + ФДТ)* – четыре группы животных с различными интервалами времени и с разными параметрами лазерного облучения:

1. группа. ЛТ и через 24 ч. ФДТ ( $E = 150 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,34 \text{ Вт/см}^2$ );
2. группа. ЛТ и через 24 ч. ФДТ ( $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$ );
3. группа. ЛТ и через 48 ч. ФДТ ( $E = 150 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,34 \text{ Вт/см}^2$ );
4. группа. ЛТ и через 48 ч. ФДТ ( $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$ ).

Контролем служили крысы-опухоленосители без какого-либо воздействия.

Для сравнения лечебного эффекта комбинированной терапии также были представлены результаты исследований монотерапии (после ФДТ с амидоаминхлорином в той же дозе и параметрах лазерного излучения и после ЛТ при тех же условиях проведения опыта):

Таблица 1

Динамика роста саркомы М-1 крыс после комбинированной терапии в различной последовательности ее проведения (ФДТ+ЛТ или ЛТ+ФДТ), при разных временных интервалах и параметрах лазерного облучения. ФС амидоаминхлорин в дозе 1,25 мг/кг. Доза  $\gamma$ -излучения 20 Гр

№ п/п	Интервал времени	Параметры лазерного облучения	Коэффициент абсолютного прироста опухоли (К; М±m) у крыс с ростом опухоли				
			Полная регрессия опухоли (ПР, %)				
			Частичная регрессия опухоли (ЧР, %)				
			3 сутки	7 сутки	10 сутки	14 сутки	21 сутки
ФДТ + ЛТ							
1.	Через 24 часа	E = 150 Дж/см <sup>2</sup> P <sub>S</sub> = 0,34 Вт/см <sup>2</sup>	1,82 ± 1,02 20, 0 % 10,0 %	1,34 ± 0,39 * 20,0 % 10,0 %	4,47 ± 1,66* 20,0 % 10,0 %	4,90 ± 1,86 * 30,0 % 0 %	12,39, ± 2,72 30,0 % 0 %
2.	Через 48 часов	E = 150 Дж/см <sup>2</sup> P <sub>S</sub> = 0,34 Вт/см <sup>2</sup>	0,29 ± 0,11 * 11,1% 33,3 %	0,12 * 44,4 % 44,4 %	0,78 ± 0,00 * 55,6 % 22,2 %	0,82 ± 0,24* 50,0 % 0 %	3,09 ± 0,83 * 50,0 % 0 %
3.	Через 24 часа	E = 300 Дж/см <sup>2</sup> P <sub>S</sub> = 0,51 Вт/см <sup>2</sup>	0,86 ± 0,42 * 66,7 % 0 %	1,29 88,7 % 0 %	0,47 77,8 % 11,1 %	1,14 ± 1,00 * 77,8 % 0 %	3,27 ± 1,94 * 66,7 % 0 %
4.	Через 48 часов	E = 300 Дж/см <sup>2</sup> P <sub>S</sub> = 0,51 Вт/см <sup>2</sup>	1,31 ± 1,17 75,0 % 12,5 %	1,88 87,5 % 0 %	0,50 87,5 % 0 %	0,50 87,5 % 0 %	0,90 ± 0,36 * 62,5 % 0 %
ЛТ + ФДТ							
1.	Через 24 ч	E = 150 Дж/см <sup>2</sup> P <sub>S</sub> = 0,34 Вт/см <sup>2</sup>	0,70 ± 0,37* 12,5 % 37,5 %	1,07 ± 0,96 * 50,0 % 25,0 %	1,99 ± 0,13 * 50,0 % 25,0 %	1,64 ± 1,09 * 50,0 % 0 %	5,36 ± 2,66 * 50,0 % 0 %
2.	Через 48 ч	E = 150 Дж/см <sup>2</sup> P <sub>S</sub> = 0,34 Вт/см <sup>2</sup>	6,43 88,9 % 0 %	3,99 77,8 % 11,1 %	4,7 77,8 % 11,1 %	4,66 ± 3,03 * 77,8 % 0 %	7,43 ± 6,72* 77,8 % 0 %
3.	Через 24 ч	E = 300 Дж/см <sup>2</sup> P <sub>S</sub> = 0,51 Вт/см <sup>2</sup>	1,16 ± 0,33 11,1 % 44,4 %	0,76 ± 0,10 * 44,4 % 33,3 %	0,64 ± 0,04 * 44,4 % 33,3 %	- 66,7 % 33,3 %	0,57 75,0 % 12,5 %
4.	Через 48 часов	E = 300 Дж/см <sup>2</sup> P <sub>S</sub> = 0,51 Вт/см <sup>2</sup>	1,97±0,18 0 % 0 %	0,25±0,17* 50,0 % 0 %	0,15 80,0 % 10,0%	0,12 90,0 % 0 %	0,09 90,0 % 0 %
Контроль (К)			2,11±0,25	8,08±0,95	17,49±2,54	43,78±10,23	81,94±22,56
*p<0,050 – уровень достоверной значимости по сравнению с контролем							

Таблица 2

Динамика роста саркомы М-1 крыс после монотерапии (ФДТ или ЛТ)

Вид монотерапии	Параметры облучения	Коэффициент абсолютного прироста опухоли (К; М±m) у крыс с ростом опухоли				
		Полная регрессия опухоли (ПР, %)				
		Частичная регрессия опухоли (ЧР, %)				
		3 сутки	7 сутки	10 сутки	14 сутки	21 сутки
ФДТ Амидоаминхлорин 1,25 мг/кг	E = 150 Дж/см <sup>2</sup> P <sub>S</sub> = 0,34 Вт/см <sup>2</sup>	-0,85 ± 0,10 * 50,0 % 0 %	-0,14 ± 0,52 * 40,0 % 0 %	0,70 ± 1,17 * 30,0 % 0 %	5,52 ± 4,32 * 30,0 % 0 %	28,11 ± 14,34 30,0 % 0 %
ФДТ Амидоаминхлорин 1,25 мг/кг	E = 300 Дж/см <sup>2</sup> P <sub>S</sub> = 0,51 Вт/см <sup>2</sup>	-0,90 ± 0,15 * 70,0 % 0 %	-0,10 ± 0,64 * 70,0 % 0 %	0,34 ± 1,90 * 50,0 % 0 %	3,28 ± 3,02 * 50,0 % 0 %	7,34 ± 2,93 * 40,0 % 0 %
ЛТ	20 Гр.	0,53 ± 0,12 * 0 % 10 %	0,81 ± 0,34 * 0 % 40 %	1,76 ± 0,47 * 15,0 % 15,0 %	3,20 ± 0,83 * 25,0 % 10,0 %	8,81 ± 2,02 * 30,0 % 0 %
Контроль (К)		2,97 ± 0,50	14,01 ± 2,05	20,73 ± 2,04	36,00 ± 3,85	65,31 ± 7,70
* p<0,050 – уровень достоверной значимости по сравнению с контролем						

1. ФДТ (1,25 мг/кг, E = 150 Дж/см<sup>2</sup>, P<sub>S</sub> = 0,34 Вт/см<sup>2</sup>);
2. ФДТ (1,25 мг/кг, E = 300 Дж/см<sup>2</sup>, P<sub>S</sub> = 0,51 Вт/см<sup>2</sup>);
3. ЛТ однократно в дозе 20 Гр.

Животные при облучении лазером находились под общим тиопенталовым наркозом (внутрибрюшинно 2,5 %-ный раствор в объеме 0,2 мл/100 г массы животного).

Источником лазерного излучения служил полупроводниковый лазерный аппарат «Аткус-2»

производства ЗАО «Полупроводниковые приборы» (Санкт-Петербург, Россия) с длиной волны излучения 662±1 нм. Ø светового пятна составлял 1,5 см.

Источником  $\gamma$ -излучения являлась установка «Луч-1» ( $\gamma$ -терапевтическая установка с источником <sup>60</sup>Со).

Объем опухоли измеряли до проведения комбинированной терапии (V<sub>0</sub>) и на 3; 7; 10; 14; и 21 сутки после лечения.

Конечный срок исследования был выбран, исходя из необходимости сравнения динамики рос-

та опухоли у крыс с продолженным ростом после терапии с контрольными животными, так как на данный срок исследования уже начинается гибель контрольных животных.

Эффективность терапии оценивали по рекомендации Фармкомитета [13]:

1. По коэффициенту абсолютного прироста опухоли (К). Для этого сначала вычисляли объемы опухолей по формуле:

$$(1) V = \frac{1}{6} \pi \times d_1 \times d_2 \times d_3, \text{ где}$$

$d_1, d_2, d_3$  - три взаимно перпендикулярные диаметры опухоли,

$V$  - объем опухоли в  $\text{см}^3$ .

Коэффициент абсолютного прироста опухоли (К) рассчитываем по формуле:

$$(2) K = \frac{V_t - V_0}{V_0}, \text{ где}$$

$V_0$  - объем опухоли до воздействия,

$V_t$  - объем опухоли на определенный срок наблюдения.

2. По проценту животных в группе с полной регрессией (ПР, %) опухоли ( $K = -1,00$ ). За полную регрессию опухоли мы принимали отсутствие видимой и пальпируемой опухоли;

3. По проценту животных с частичной регрессией опухоли (ЧР, %). За ЧР мы принимали уменьшение роста опухоли от первоначального объема ( $-1,00 < K < 0$ ).

**Статистическую обработку** результатов исследований проводили в компьютерной программе «Statistica» непараметрическими методами для независимых групп (описательная статистика, метод U теста Манна-Уитни).

#### Результаты и обсуждение

##### I серия опытов (ФДТ + ЛТ)

**Группа 1.** При проведении ФДТ (*при  $E = 150 \text{ Дж/см}^2$ ,  $P_s = 0,34 \text{ Вт/см}^2$* ) и через 24 ч ЛТ получен незначительный ингибирующий эффект на 21 сутки после лечения. ПР наблюдалась у 30 % животных (табл. 1). ЧР отмечалась у 10 % животных на 3–10 сутки после терапии (табл. 2), процент регрессии от  $V_0$  не превышал 32 % и на 21 сутки у них наблюдался рост опухоли. Коэффициент абсолютного прироста опухоли, на данный срок, у животных с продолженным ростом снижен по сравнению с контролем, но недостоверно значим.

**Группа 2.** При проведении ФДТ (*при  $E = 150 \text{ Дж/см}^2$ ,  $P_s = 0,34 \text{ Вт/см}^2$* ) и через 48 ч ЛТ получен более значительный ингибирующий эффект на 21 сутки исследования по сравнению с группой 1 при тех же параметрах лазерного излучения. ПР опухоли отмечалась у 50 % животных. ЧР наблюдалась у значительного количества животных с 3 по 10 сутки после терапии (у 44,4–22,2 % животных), про-

цент регрессии более 50 % от  $V_0$  отмечался на данные сроки у 1 крысы, в дальнейшем у половины из этих животных до 21 суток исследования наблюдалась ПР опухоли. Коэффициент абсолютного прироста у животных с ростом опухоли снижен и значим по сравнению с таковым в группе контроля ( $p < 0,050$ ).

**Группа 3.** При проведении ФДТ (*при  $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $P_s = 0,51 \text{ Вт/см}^2$* ) и через 24 часа ЛТ получили увеличение ингибирующего эффекта по сравнению с группами 1 и 2. ПР опухоли на 21 сутки после лечения отмечена уже у 66,7 % животных. ЧР наблюдалась у 11,1 % животных на 10 сутки после терапии, процент регрессии от  $V_0$  не превышал 39 % и на 21 сутки у них наблюдался рост опухоли. Коэффициент абсолютного прироста у животных с ростом опухоли достоверно ниже, чем в контроле ( $p < 0,050$ ).

**Группа 4.** При проведении ФДТ и той же дозе лазерного излучения, как в группе 3 (*при  $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $P_s = 0,51 \text{ Вт/см}^2$* ) и через 48 часов ЛТ, мы получили усиление ингибирующего эффекта. ПР опухоли составляла на 21 сутки после комбинированного воздействия 62,5 %. ЧР наблюдалась у 12,5 % животных на 3 сутки после терапии, максимальный процент регрессии от  $V_0$  составлял 54 %, в дальнейшем наблюдалась ПР опухоли. Темп прироста у животных с продолженным ростом опухоли уже значительно ниже по сравнению с контролем ( $p < 0,010$ ).

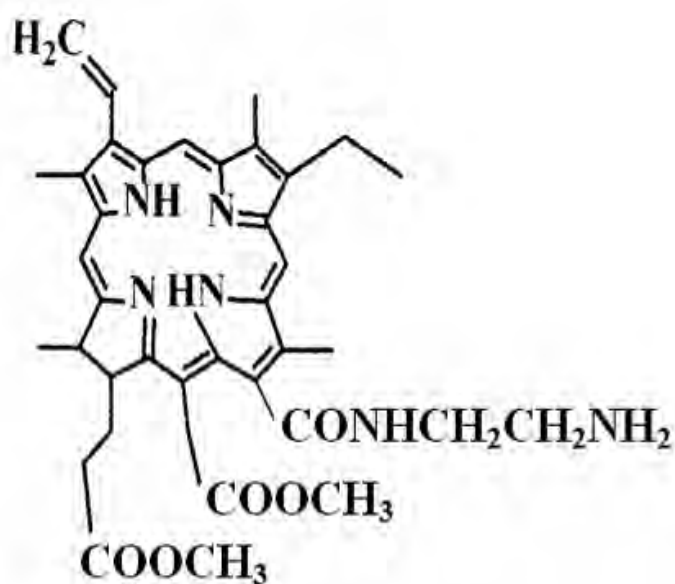
Таким образом, на 21 сутки после комбинированной терапии в последовательности ФДТ + ЛТ противоопухолевый эффект зависел в первую очередь от параметров лазерного излучения (при  $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $P_s = 0,51 \text{ Вт/см}^2$  ингибирующий эффект выше, чем при  $E = 150 \text{ Дж/см}^2$ ;  $P_s = 0,34 \text{ Вт/см}^2$ ).

Также усиление противоопухолевого эффекта зависело от интервала времени. Особенно это проявлялось при плотности энергии и плотности мощности лазерного излучения  $150 \text{ Дж/см}^2$  и  $0,34 \text{ Вт/см}^2$ .

При проведении ЛТ через 48 ч после ФДТ противоопухолевый эффект выше, чем через 24 ч. При параметрах лазерного излучения  $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $P_s = 0,51 \text{ Вт/см}^2$  противоопухолевый эффект, хотя и очень незначительно, но также усиливался при интервале времени 48 ч.

##### II серия опытов (ЛТ + ФДТ)

**Группа 1.** При проведении ЛТ и через 24 ч ФДТ (*при  $E = 150 \text{ Дж/см}^2$ ,  $P_s = 0,34 \text{ Вт/см}^2$* ) на 21 сутки исследования у 50 % животных наблюдалась ПР опухоли, что выше, чем в I серии опытов при тех же условиях (табл. 1). ЧР наблюдалась у значительного количества животных с 3 по 10 сутки после терапии (у 33,3–25,0 % животных), регрессия составляла на данные сроки от 40 до 54 % от  $V_0$ . В дальнейшем у этих животных наблюдалась ПР опухоли. Темп прироста у животных с продолженным ростом опухоли достоверно ниже, чем в контроле ( $p < 0,050$ ).



$C_{38}H_{46}N_6O_5$   
MW 666.82

Рис. 1. Формула ФС амидоаминхлорина.

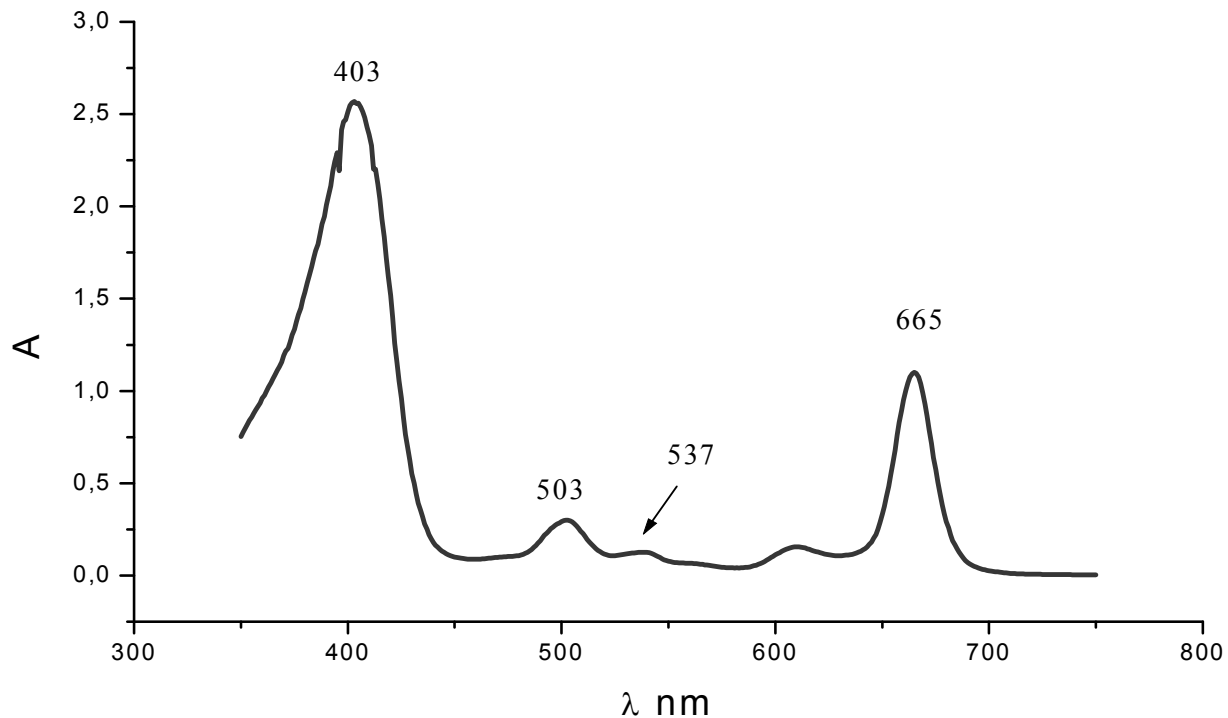


Рис. 2. Спектр флуоресценции поглощения препарата амидоаминхлорина (A – оптическая плотность).

**Группа 2.** При проведении ЛТ и через 48 ч ФДТ при тех же параметрах лазерного излучения, как в группе 1 (при  $E = 150 \text{ Дж/см}^2$ ;  $Ps = 0,34 \text{ Вт/см}^2$ ), на 21 сутки исследования наблюдался значительный ингибирующий эффект. На этот срок после комбинированного воздействия ПР опухоли отмечен уже у 77,8 % животных. Это больше, чем в I серии при данных параметрах. ЧР наблюдалась у 11,1 % животных на 7–10 сутки после терапии, процент регрессии от  $V_0$  не превышал 24 %, и на 21 сутки у них наблюдался рост опухоли. Снижение коэффициента абсолютного прироста у животных с ростом опухоли значимо по сравнению с контролем ( $p < 0,050$ ).

**Группа 3.** При проведении ЛТ и через 24 часа ФДТ, но при увеличении параметров лазерного излучения (при  $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ;  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$ ), мы получили увеличение ингибирующего эффекта – ПР опухоли на 21 сутки у 75 % животных. ЧР наблюдалась у значительного количества животных с 3 по 14 сутки после терапии (у 44,4 – 33,3 % животных), максимальный процент регрессии отмечался на данные сроки до 80 % от  $V_0$ . И даже на 21 сутки после лечения ЧР наблюдалась у 12,5 % животных и составляла 77 % от  $V_0$ . Продолженный рост опухоли наблюдался только у одного животного. Лечебный эффект получили выше, чем в группе 2 и в предыдущей серии при данных параметрах.

**Группа 4.** Проведение ЛТ и через 48 ч ФДТ при тех же параметрах лазерного излучения как в группе 3 (при  $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ;  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$ ). Мы получили усиление ингибирующего эффекта. ПР составляла на 21 сутки после лечения уже у 90 % животных. По сравнению с I серией опытов – это значительное увеличение противоопухолевого эффекта. ЧР наблюдалась у 10 % животных на 10 сутки после терапии, процент регрессии от  $V_0$  не превышал 43 %, на 21 сутки у этих животных наблюдался незначительный рост опухоли, коэффициент абсолютного прироста равен почти нулю ( $K=0,09$ ).

Таким образом, на 21 сутки после комбинированной терапии в последовательности ЛТ+ФДТ противоопухолевый эффект зависел в первую очередь от параметров лазерного излучения.

При следующих параметрах проведения ФДТ:  $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$  – ингибирующий эффект выше, чем при  $E = 150 \text{ Дж/см}^2$ ;  $Ps = 0,34 \text{ Вт/см}^2$ .

Также противоопухолевый эффект зависел от интервала времени.

При проведении ФДТ через 48 ч после ЛТ противоопухолевый эффект выше, чем через 24 ч. Особенно это проявлялось при плотности энергии и плотности мощности лазерного излучения  $150 \text{ Дж/см}^2$  и  $0,34 \text{ Вт/см}^2$ .

При параметрах лазерного излучения  $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$  противоопухолевый эффект также усиливался при интервале времени 48 ч.

При проведении монотерапии (ФДТ) максимальный процент животных с ПР опухоли на 21 сутки после лечения составлял 40 %, а снижение коэффициента абсолютного прироста у животных с ростом опухоли значимо по сравнению с контролем ( $p < 0,050$ ) только при проведении лазерного облучения при следующих параметрах:  $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$ . При проведении монотерапии (ЛТ) ПР опухоли на 21 сутки исследования отмечалась у 30 % животных. ЧР опухоли отмечалась только при проведении ЛТ.

На 7 сутки из 20 опытных животных у 40 % (8) наблюдалась ЧР опухоли. Процент регрессии превышал 50 % от  $V_0$  и постепенно к концу наблюдения у 30 % из этих животных отмечалась ПР опухоли, а у 10 % из них на 21 сутки – рост.

У остальных животных на протяжении всего срока наблюдения отмечался продолженный рост опухоли, хотя темп прироста был достоверно ниже чем в группе контроля ( $p < 0,050$ ).

Эффективность комбинированной терапии превышает лечебное воздействие монотерапии, проведенной при тех же условиях, что выражалось в увеличении процента животных с полной регрессией опухоли и значительным снижением коэффициента абсолютного прироста у животных с продолженным ростом опухоли.

## Выводы

1. По результатам всех проведенных исследований установлено: после комбинированной терапии получен более значительный ингибирующий эффект, чем после каждой монотерапии в отдельности.
2. Максимальный лечебный эффект ФС амидаминхлорина до 21 суток после комбинированного воздействия (ПР опухоли у 90 % животных) отмечался при следующей терапевтической схеме лечения: ЛТ, через 48 ч ФДТ ( $E = 300 \text{ Дж/см}^2$ ,  $Ps = 0,51 \text{ Вт/см}^2$ ).

## Литература

1. Бурмистрова Н.В., Каплан М.А., Пономарев Г.В., Малыгина А.И. Изучение фотодинамической активности Амидаминхлорина // Российский биотерапевтический журнал. – 2009. – Т. 8, № 2. – С. 30.
2. Гельфонд М.Л. Возможности ФДТ в онкологической практике // Физическая медицина. – 2005. – Т. 15, № 2. – С. 33–7.

3. Каплан М.А., Ильин А.А., Медведев В.С. и др. Фотодинамическая терапия: результаты и перспективы // Радиация и риск. – 2013. – Т. 22, № 3. – С. 115–23.
4. Каплан М.А., Никитина Р.Г., Малыгина А.И. Экспериментальная разработка путей оптимизации фотодинамической терапии // Лазерная и фотодинамическая терапия. Тез. докл. междунар. конф. Обнинск, 1999. – С. 17–8.
5. Каширцева И.В., Каплан М.А., Малыгина А.И. Сравнительная оценка противоопухолевой эффективности препарата Хлоринаминамида-1 в различной форме при фотодинамической терапии саркомы М-1 // Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. Материалы I Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы ФД и ФДТ». – 2012. – №1. – С. 18–9.
6. Меерович И.Г., Меерович Г.А., Оборотова Н.А., Барышников А.Ю. Распределение света по глубине опухолевого очага и эффективность использования терапевтического излучения при фотодинамической терапии // Российский биотерапевтический журнал. – 2006. – Т. 5, № 3. – С. 93–7.
7. Отдельнова О.Б. Гельфонд М.Л., Хаишукоева А.З. и др. Предклиническая оценка фотосенсибилизатора и источника света для оптимизации ФДТ // Российский биотерапевтический журнал. – 2009. – Т. 8, № 2. – С. 38–9.
8. Пономарев Г.В. Перспективы создания фотосенсибилизаторов на основе природного хлорофилла А // Российский биотерапевтический журнал. – 2007. – Т.6, № 1. – С. 24.
9. Пономарев Г.В., Егоров С.Ю., Стрижаков А.А. и др. Фотогенерация синглетного кислорода фотосенсибилизаторами тетрапиррольного ряда в связи с проблемами фотодинамической терапии // Российский биотерапевтический журнал. – 2013. – Т. 12, № 2. – С. 68.
10. Резункова О.П. Влияние лучевого воздействия на окисление белков крыс // Научное приборостроение ИАП РАН. СПб. – 1995. – Т. 78, № 5. – С. 484–7.
11. Резункова О.П. КВЧ, радиация, онкология – теоретические и экспериментальные вопросы. – СПб.: Общество «Знание», 2010. – 124 с.
12. Романко Ю.С., Цыб А.Ф., Каплан М.А., Попучиев В.В. Зависимость противоопухолевой эффективности фотодинамической терапии от плотности световой энергии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 139, № 4. – С. 456–61.
13. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. – М.: Гриф и К, 2012. – Часть 1. – С. 650–1; 655–69.
14. Странадко Е.Ф. Основные этапы развития и современное состояние ФДТ в России // Российский биотерапевтический журнал. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 51.
15. Цыб А.Ф., Каплан М.А., Романко Ю.С., Попучиев В.В. Фотодинамическая терапия. – М.: МИА, 2009. – 195 с.
16. Чан Тхи Хай Иен, Раменская Г.В., Оборотова Н.А. Фотосенсибилизаторы хлоринового ряда в фотодинамической терапии опухолей // Российский биотерапевтический журнал. – 2009. – Т. 8, № 4. – С. 99–105.
17. Экспериментальные аспекты фотодинамической терапии / Под. ред. А.Ф. Цыба и М.А. Каплана. Калуга: Издательство научной литературы Н.Ф. Бочкаревой, 2010. – 108 с.