

На правах рукописи

Абрамова Ольга Борисовна

**ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ПЕРЕВИВАЕМЫХ
ОПУХОЛЕЙ РАЗЛИЧНОГО ГИСТОГЕНЕЗА У
ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ С
ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРАМИ ХЛОРИНОВОГО РЯДА**

03.01.01 – Радиобиология (биологические науки)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Обнинск – 2021

Работа выполнена в Медицинском радиологическом научном центре имени А.Ф. Цыба – филиале федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

ПЕТРИЕВ Василий Михайлович - доктор биологических наук

Научный консультант:

КАПЛАН Михаил Александрович - доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

ГЕЛЬФОНД Марк Львович – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник научного отделения торакальной онкологии федерального государственного бюджетного учреждения "Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Петрова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Санкт-Петербург.

СТРАНАДКО Евгений Филиппович – доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения лазерной онкологии и фотодинамической терапии федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр лазерной медицины имени О.К. Скобелкина Федерального медико-биологического агентства» Российской Федерации, г. Москва.

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения Московской области «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М. Ф. Владимирского».

Защита диссертации состоится «25» января 2022 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д.208.047.03 на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, д.4.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Медицинского радиологического научного центра имени А.Ф. Цыба – филиала федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации (249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, д.4) и на сайте www.nmicr.ru.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Ю.В. Гуменецкая

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В настоящее время фотодинамическая терапия (ФДТ) широко применяется в клинической практике при лечении широкого спектра онкозаболеваний. У этого метода множество преимуществ и он обладает высокой противоопухолевой активностью, но имеет и ряд ограничений. Основными проблемами являются малая глубина проникновения света в ткани и недостаточная селективность накопления в опухолевых тканях по сравнению с окружающими здоровыми (Гельфонд и др., 2003; 2007; Каплан и др., 2014; Странадко, 1994, 2013, 2015; Филоненко и др., 2016, 2018; Цыб и др., 2009; Agostinis et al., 2011; Allison, 2013; Reinhard et al., 2015; Straten van et al., 2017). Снятие этих ограничений позволит значительно расширить область применения ФДТ. В связи с этим дальнейшее совершенствование метода будет проходить в области поиска новых фотосенсибилизаторов (ФС), обладающих более высокой опухолетропностью к конкретным видам опухолей – таргетных препаратов, применение которых позволит снизить дозовую нагрузку и исключить повреждения здоровых тканей. Также перспективным подходом является сочетание ФДТ с нейтрон-захватной терапией для проведения которой необходимо насытить опухолевые клетки бором. Соединения хлорина еб в липосомальной форме, являющиеся фотосенсибилизаторами, обладают высоким коэффициентом селективного накопления в опухолевых клетках и включение бора в состав этих соединений позволяет доставить его в опухолевые узлы (Дмитриева, 2016). После этого появляется возможность сочетать ФДТ с нейтрон-захватной терапией и усиливать положительные свойства каждого из методов, снижая при этом негативные побочные эффекты за счет более щадящих параметров проведения каждой из терапий. Кроме того, важным направлением развития метода является оптимизация уже существующих режимов ФДТ и расширение области применения ФС, поскольку создание и регистрация новых препаратов - процесс и дорогостоящий, и длительный, а существующие препараты еще не исчерпали все свои возможности.

Отдел фотодинамической диагностики и терапии МРНЦ им. Цыба ведет постоянную работу по созданию, улучшению и клинической оценке новых методов проведения ФДТ. В рамках этой работы в лаборатории

экспериментальной фотодинамической терапии проводятся доклинические исследования противоопухолевой активности новых перспективных фотосенсибилизаторов, а также производится точная отработка режимов для проведения эффективной ФДТ перед внедрением любого нового препарата в клиническую практику отдела. В настоящее время общепринята методика исследования противоопухолевой активности ФС *in vivo* на доступных моделях экспериментальных перевиваемых опухолей лабораторных животных (Миронов, 2012, Хабриев, 2005).

При исследовании терапевтических возможностей новых ФС очень важно учитывать особенности различных гистологических типов опухолей-мишеней. Каждый тип опухоли характеризуется собственным темпом роста, особенностями ангиогенеза и взаимодействия с иммунной системой. Поэтому необходимо в экспериментальных исследованиях устанавливать все параметры проведения лечения: определять диапазон терапевтических доз каждого ФС, лекарственно-световой интервал (ЛСВИ) между введением препарата и облучением и оптимальный режим лазерного воздействия с учетом всех особенностей опухоли.

В проведенном диссертационном исследовании была изучена противоопухолевая эффективность ФДТ с применением перспективных отечественных ФС - производных хлоринового ряда: комплекса тринатриевой соли хлорина еб с поливинилпирролидоном (Фоторан Еб), уже разрешенного для клинического применения, в качестве воспроизведенного препарата, но поскольку противоопухолевая эффективность данного дженерика на биологических моделях ранее не изучалась, перед внедрением препарата в клиническую практику нашего института были произведены дополнительные исследования по разработке методик проведения ФДТ экспериментальных опухолей с этим фотосенсибилизатором *in vivo*; также была исследована противоопухолевая эффективность борсодержащей липосомальной формы хлорина еб (ЛБХ), для подготовки к разработке комбинированного метода лечения злокачественных новообразований при сочетании ФДТ и нейтрон-захватной терапии; и третий исследованный перспективный фотосенсибилизатор хлоринового ряда - хлорин еб, конъюгированный с ПСМА-лигандом, обеспечивающим эффективную таргетную доставку молекул ФС не только в злокачественные ткани простаты, но и предположительно в клетки меланомы (Nimmagadda et al., 2018).

Степень разработанности темы исследования

В диссертационной работе представлены, систематизированы и проанализированы основные результаты исследований в области ФДТ экспериментальных опухолей различного гистогенеза с применением новых отечественных ФС, противоопухолевая эффективность которых, на моделях перевиваемых опухолей лабораторных животных различного гистогенеза: саркоме М-1, карциноме Эрлиха и меланоме В16 ранее комплексно не исследовалась.

Цель исследования

Разработка методик применения новых фотосенсибилизаторов хлоринового ряда и анализ их противоопухолевой эффективности в модельных экспериментах.

Задачи исследования

1. Исследовать динамику накопления ФС в опухолевых и окружающих тканях животных-опухоленосителей для установления оптимального времени проведения лазерного воздействия.

2. Оценить фотодинамическую активность изучаемых ФС по следующим критериям: торможению роста опухолей (ТРО, %); по доле животных с полной регрессией опухоли (ПР, %); по коэффициенту абсолютного прироста опухолевых узлов (К) у животных с продолженным ростом неоплазий; по увеличению продолжительности жизни (УПЖ, %) у особей в опытных группах по сравнению с контролем. Критерий излечения животных – отсутствие признаков рецидивирования и продолженного роста опухоли вплоть до 90-х суток после терапии.

3. Оценить терапевтический потенциал проведения ФДТ по девитализации опухолевых клеток с каждым из ФС путем гистологического исследования зон лазерного воздействия на 21-е сутки после облучения.

4. Установить оптимальные дозировки введения ФС и режимы проведения лазерного воздействия для достижения максимального противоопухолевого ответа на каждом из исследуемых гистотипов опухолей.

Научная новизна

Впервые проведена комплексная оценка противоопухолевой эффективности новых отечественных ФС хлоринового ряда.

Определены оптимальные соотношения доз ФС (Фоторана Е6, Липосомального борированного хлорина и Хлорина е6 с ПСМА-лигандом),

плотности энергии и плотности мощности используемого лазерного излучения для ФДТ саркомы М-1, карциномы Эрлиха и меланомы В16, позволяющие получить максимальный терапевтический ответ - полную регрессию изученных опухолей вплоть до 90 суток после терапии, а также определены оптимальные ЛСВИ для проведения эффективной терапии.

Впервые изучены особенности морфологических изменений в опухолевых и окружающих тканях после ФДТ с использованием исследованных препаратов.

Теоретическая и практическая значимость работы

В результате проведенного исследования разработаны методики ФДТ злокачественных опухолей различного гистогенеза с новыми отечественными ФС. Результаты работы вносят вклад в понимание особенностей противоопухолевого действия ФДТ с ФС хлоринового ряда с учетом нюансов, характерных для каждого из них, а также свидетельствуют о том, что изученные ФС перспективны для лечения онкологических заболеваний и разработанные методики целесообразно использовать для переноса в клиническую практику. С помощью полученных данных возможно формирование терапевтических рекомендаций, совокупное применение которых позволит подобрать персонафицированный набор параметров проведения ФДТ эффективный для конкретного типа опухоли. Поэтому полученные данные и разработанные методики имеют не только фундаментальное, но и важное практическое значение.

Методология и методы диссертационного исследования

В методологии диссертационной работы использованы общенаучные теоретические, а также эмпирические методы. Для постановки темы и обоснования актуальности диссертационного исследования проводился анализ российской и зарубежной научной литературы. В работе были применены объективные современные методы исследования на трех штаммах перевиваемых опухолей лабораторных животных, включая анализ накопления ФС в тканях с определением индекса контрастности опухоль/окружающие ткани, изучение параметров роста опухолевых узлов и морфологических изменений в опухолевых тканях с верификацией выживших опухолевых клеток, которые могут определять рецидивирующий рост, а также статистического анализа результатов измерений.

Положения, выносимые на защиту

1. Фотодинамическая терапия, проводимая с фотосенсибилизаторами Фоторан Е6 и ЛБХ подавляет рост перевитых животным саркомы М-1, карциномы Эрлиха и меланомы В16 при всех использованных дозах ФС и параметрах облучения. ФДТ с хлорином е6 конъюгированным с ПСМА-лигандом подавляет рост меланомы В-16 при всех использованных дозах ФС и параметрах облучения.
2. Установлено оптимальное время для проведения облучения после введения рассматриваемых ФС.
3. Определены дозы ФС и параметры лазерного облучения, позволяющие получить высокий противоопухолевый эффект.

Личный вклад автора

Автор лично принимал участие в планировании, организации, постановке и выполнении экспериментов, обрабатывал и интерпретировал полученные в процессе работы данные, готовил и размещал публикации по результатам выполненных работ.

Публикации

По результатам диссертационного исследования опубликовано 4 статьи в рецензируемых изданиях, индексируемых в международных базах данных и рекомендованных ВАК Минобрнауки России для публикации материалов диссертации на соискание ученой степени, 11 тезисов докладов в сборниках трудов научных конференций, получено 5 патентов РФ на изобретения и 4 авторских свидетельства о государственной регистрации баз данных в Федеральной службе по интеллектуальной собственности РФ.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных в ходе исследования результатов достигается необходимым и достаточным количеством наблюдений, соответствующих целям и задачам, поставленным в работе, а также актуальным и проверенным методам исследований, общепринятым в научном сообществе.

Основные результаты, полученные в диссертационной работе, были доложены и обсуждены на российских и международных научных конференциях:

1. Устный доклад «Изучение противоопухолевой эффективности ФДТ саркомы М-1 крыс с Фотораном Е6» на V международной школе «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика», февраль 2019 г., Москва;

2. Стендовый доклад «Эффективность фотодинамической терапии меланомы В16 мышей с новым отечественным фотосенсибилизатором Фоторан Е6» на Конгрессе «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика» в рамках второго международного форума «Онкология и радиология», 25-26 сентября 2019 г., Москва;

3. Доклад «Действие фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором Фоторан Е6 на саркому М-1 крыс» на Всероссийской конференции "Актуальные проблемы радиобиологии и гигиены неионизирующих излучений", 12-13 ноября 2019 г., Москва;

4. Устный доклад «Фотодинамическая терапия меланомы В16 с конъюгатом хлорина е6 с ПСМА-лигандом» на IX международном конгрессе «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика», октябрь 2020 г., Москва;

5. Устный доклад «Гистологическая оценка эффективности действия ФДТ меланомы В16 с использованием конъюгата хлорина е6 с ПСМА-лигандом» на X международном конгрессе «Фотодинамическая терапия и фотодиагностика», июнь 2021 г., Москва.

Апробация диссертации была проведена на заседании научно-практической конференции экспериментального радиологического сектора МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России 3 июня 2021 г. (Протокол №311).

Структура и объем диссертации

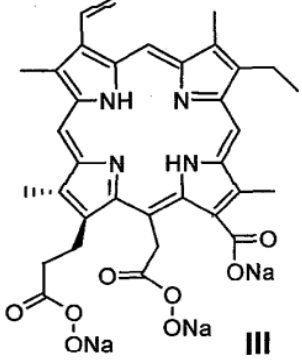
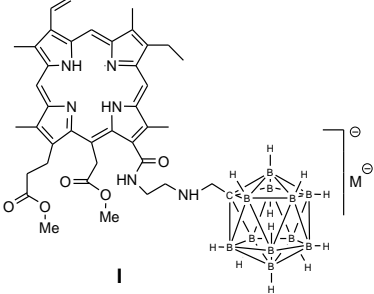
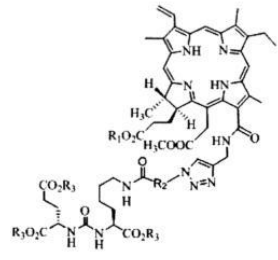
Диссертация представлена на 143 страницах машинописного текста. Она состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов используемых в исследовании, результатов экспериментов и заключения, а также выводов и списка цитируемой литературы (134 источника, из них 56 - российские, 78 - зарубежные). Работа иллюстрирована 69 рисунками и 31 таблицей.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

В диссертационной работе использовались фотосенсибилизаторы, структурные формулы которых представлены в табл. 1.

Исследованные фотосенсибилизаторы

Фоторан Еб	Липосомальный борированный хлорин	Хлорин еб с ПСМА-лигандом
 <p>Структурная формула Фоторана Еб</p>	 <p>Структурная формула борированного хлорина еб (патент РФ № 2406726, Ольшевская и др., 2009)</p>	 <p>Структурная формула хлорина еб, конъюгированного с ПСМА-лигандом</p>
<p>Препарат (рег. №: ЛП-004885 от 13.06.18). Действующее вещество - тринатриевая соль хлорина еб (Фотолон®) и вспомогательные вещества: повидон К17, натрия гидроксид.</p> <p>Раствор препарата готовили ex tempore: необходимое количество растворяли в соответствующем объеме 0,9% раствора хлорида натрия до конечной концентрации 1 мг/мл.</p>	<p>В лекарственной форме «Липосомальный борированный хлорин» молекулы борированного хлорина помещены в фосфолипидные везикулы размером 200 ± 10 нм. Действующее вещество - (13(1)-N-{2-[N-(клозо-монокарбадодекаборат-1этил) метил] аминоэтил} амид-15 (2), 17 (3) – диметилового эфира хлорина еб.</p> <p>Раствор препарата готовили ex tempore, растворяя в воде для инъекций непосредственно перед введением до концентрации 1 мг/мл.</p>	<p>Разработан в Институте тонкой химии РГУ МИРЭА (Грин, 2018). В качестве векторной молекулы, присоединенной к хлорину еб был использован пептидомиметик на основе лизина и глутаминовой кислоты, соединенных остатком мочевины (ПСМА-лиганд). Раствор для инфузий готовили ex tempore, путем добавления 0,9% раствора хлорида натрия до концентрации 1 мг/мл.</p>

Опухолевые штаммы и лабораторные животные

Штаммы перевиваемых опухолей были получены в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Меланому В16 перевивали от доноров в виде суспензии клеток. Для чего опухолевые узлы доноров извлекались из псевдокапсулы и измельчались ножницами до однородного состояния в растворе Хэнкса, после чего по 30-60 мг в 0,03-0,05 мл питательной среды вводилось подкожно в депиллированное бедро каждому животному. На 4-9 сутки после перевивки, животным с опухолями диаметром 0,4-0,6 см, проводился сеанс ФДТ.

Саркому М-1 перевивали в виде кусочков опухоли от аутбредных крыс-доноров, на которых поддерживается штамм. Для этого стерильными ножницами вырезали опухоль у донора, промывали в растворе Хэнкса и очищали от некротических участков, а затем разрезали на кусочки размером $\sim 1\text{мм} \times 1\text{мм} \times 1\text{мм}$. Затем, в стерильную металлическую иглу-троакар помещали фрагмент опухоли и подкожно вводили в бедро с помощью мандрена. В опытные группы животных с диаметром опухоли 0,7-1,0 см распределяли на 7-9 день.

Карцинома Эрлиха асцитическую жидкость карциномы от аутбредных мышей-доноров, на которых поддерживается штамм, по 0,05 мл на мышь вводили подкожно в область бедра животным опытных групп для воспроизведения солидной опухоли. В опыт мышей отбирали на 2-3 день, когда диаметр опухоли достигал 0,4–0,6 см. Шерстный покров на облучаемом бедре перед сеансом ФДТ во всех группах депилировали.

Используемые протоколы экспериментов на животных были одобрены Комиссией по биоэтическому контролю за содержанием и использованием лабораторных животных в научных целях ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России (номер разрешения: 1-Д-00004), на 200 аутбредных крысах-самках, весом 180-230 г, 192 аутбредных мышах-самках, 152 мышах линии C57Bl/6 и 152 гибридах линии F1 (CBA x C₅₇ BL/6j). Животные были получены в питомнике лабораторных животных ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (филиал «Андреевка») и находились на стандартной сбалансированной диете с использованием комбикорма для содержания лабораторных грызунов и фильтрованной воды.

Метод изучения кинетики тканевого распределения

Изучение кинетики тканевого распределения ФС в опухолевой и окружающих тканях бедра проводилось методом лазерной флуоресцентной диагностики на спектрометрическом комплексе ЛЭСА-01-«Биоспек» (Россия). Оптические датчики спектрометрического комплекса размещались перпендикулярно над кожей опухолей в трех точках: в центре и двух местах на периферии. Интенсивность флуоресценции окружающих тканей измерялась в двух точках на бедре без опухоли. Время экспозиции составляло 1-2 секунды. Каждая экспериментальная группа состояла из 8 животных. Селективность накопления ФС в опухоли по отношению к здоровой ткани оценивалась по индексу контрастности

(ИК - отношение интенсивности флуоресценции опухолевых и здоровых тканей). Первое измерение проводилось до введения препарата (0 часа) и затем повторялось каждые 15-30 минут в течение 3-5 часов.

Метод проведения фотодинамической терапии

Животным с перевитой опухолью вводился исследуемый ФС внутривенно (в/в) или внутривентриально (в/б) в дозах, согласно схеме исследования. За 10 минут до наступления оптимального времени проведения облучения, животным обеспечивали общий наркоз - вводили в/б тиопентал натрия (ОАО «Синтез», Россия) в дозе 0,05 г/кг массы животного.

По достижении максимального уровня накопления ФС в опухолевых тканях животные фиксировались в специальном устройстве (Абрамова, 2019), затем, перпендикулярно к поверхности опухоли, подводился источник лазерного излучения с заданными параметрами (полупроводниковый лазерный аппарат «Аткус-2» (Санкт-Петербург) с длиной волны излучения 662 ± 1 нм. Границы поля облучения превышали видимые границы опухоли не менее чем на 2-4 мм в сторону здоровых тканей. Мощность лазерного излучения в плоскости объекта контролировалась с помощью измерителя мощности (ИМ-2, Россия) перед каждым экспериментом.

После окончания сеанса животные помещались в чистые клетки и получали надлежащий уход. В контрольных исследованиях также было изучено действие лазерного излучения без введения ФС.

Схемы экспериментов с Фотораном Е6

ФДТ саркомы М-1

ФДТ Саркомы М-1 крыс с Фотораном Е6 проводилась по схемам, представленным в табл. 2.

Таблица 2

Схемы ФДТ саркомы М-1

Доза Фоторана Е6, мг/кг	Е, Дж/см ²	Рs, Вт/см ²	Время экспозиции, мин
1 серия			
2,50	300	0,48	10
5,0	300	0,48	10
10,0	300	0,48	10
2 серия			
1,25	300	0,25	20
2,50	300	0,25	20
5,0	300	0,25	20
10,0	300	0,25	20

ФС вводили в/в. Диаметр светового пятна - 1,5 см. Количество животных в опытных группах – по 8 особей. Контроль - крысы-опухоленосители без воздействия по 8 особей к каждой опытной группе.

ФДТ карциномы Эрлиха

ФДТ карциномы Эрлиха мышей с Фотораном Е6 проводилась по схемам, представленным в табл. 3.

Таблица 3

Схема проведения ФДТ карциномы Эрлиха

Доза Фоторана Е6, мг/кг	Е, Дж/см ²	Ps, Вт/см ²	Время экспозиции, мин
5,0	100	0,25	7,0
5,0	100	0,48	4,0
5,0	150	0,48	5,5
5,0	150	1,02	3,0

ФС вводили в/в. Диаметр светового пятна - 1 см. Количество животных в опытных группах – по 8 особей. Контроль - мыши-опухоленосители без воздействия, по 8 особей к каждой группе.

ФДТ меланомы В16

ФДТ меланомы В16 мышей с Фотораном Е6 проводилась по схемам, представленным в табл. 4.

Таблица 4

Схема ФДТ меланомы В16

	Доза Фоторана Е6, мг/кг, способ введения	Е, Дж/см ²	Ps, Вт/см ²	Время экспозиции, мин
I	5,0, в/б	115	0,48	4,0
II	2,5, в/в	152	0,48	5,5
III	5,0, в/в	115	0,48	4,0
IV	5,0, в/в	152	0,48	5,5
V	5,0, в/в	152	0,25	10,0

ФС вводили в/в и в/б. Диаметр светового пятна - 1 см. Количество животных в опытных группах – по 8 особей. Контролем служили мыши-опухоленосители без воздействия по 8 особей к каждой группе.

Схемы экспериментов с ЛБХ

ФДТ саркомы М-1

ФДТ саркомы М-1 с ЛБХ проводилась по схемам, представленным в табл. 5.

Таблица 5

Схема ФДТ саркомы М-1

Доза ЛБХ, мг/кг	Е, Дж/см ²	Ps, Вт/см ²	Время экспозиции, мин
0,75	150	0,25	10,0
1,25	150	0,25	10,0
2,50	150	0,25	10,0
5,0	150	0,25	10,0

ФС вводили в/б. Диаметр светового пятна - 1,5 см. Количество крыс в опытных группах – по 8 особей. Контроль - крысы-опухоленосители без воздействия – по 8 особей к каждой группе.

ФДТ карциномы Эрлиха

ФДТ карциномы Эрлиха мышей с ЛБХ проводилась по схемам, представленным в табл. 6-7.

Таблица 6

Схема ФДТ карциномы Эрлиха (в/в введение ФС)

Доза ЛБХ, мг/кг	Е, Дж/см ²	Ps, Вт/см ²	Время экспозиции, мин
1,25	150	0,48	5,5
2,50	100	0,48	4,0

Диаметр светового пятна - 1 см. Количество животных в опытных группах – по 8 особей. Контролем служили мыши-опухоленосители без воздействия – по 8 особей к каждой группе.

Таблица 7

Схема ФДТ карциномы Эрлиха (в/б введение ФС)

Доза ЛБХ, мг/кг	Е, Дж/см ²	Ps, Вт/см ²	Время экспозиции, мин
0,70	100	0,48	4,0
1,25	100	0,48	4,0
2,50	100	0,28	6,0
2,50	100	0,48	4,0

Диаметр светового пятна - 1 см. Количество животных в опытных группах – по 8 особей. Контролем служили мыши-опухоленосители без воздействия – по 8 особей к каждой группе.

ФДТ меланомы В16

ФДТ меланомы В16 с ЛБХ проводилась по схемам, представленным в табл.8.

Таблица 8

Схема ФДТ меланомы В16

Доза ЛБХ, мг/кг	Е, Дж/см ²	Ps, Вт/см ²	Время экспозиции, мин
2,5	150	0,48	5,5
5,0	100	0,48	4,0
5,0	150	0,44	6,0
5,0	300	0,44	11,0
5,0	300	0,25	20
10,0	150	0,25	10,0
10,0	300	0,44	11,0

ФС вводили в/б. Диаметр светового пятна - 1 см. Количество животных в опытных группах – по 8 особей. Контролем служили мыши-опухоленосители без воздействия по 8 особей к каждой дозе.

Схема экспериментов с хлорином еб, конъюгированным с ПСМА-лигандом

ФДТ меланомы В16 мышей с хлорином еб, конъюгированным с ПСМА-лигандом, проводилась по схемам, представленным в табл. 9.

Схема ФДТ меланомы В16

Доза хлорина е6 с ПСМА-лигандом, мг/кг	Е, Дж/см ²	Ps, Вт/см ²	Время экспозиции, мин
2,5	100	0,44	4
2,5	105	0,25	7
2,5	144	0,48	5
5,0	105	0,25	7
5,0	144	0,48	5

ФС вводили в/в. Диаметр светового пятна - 1 см. Количество животных в опытных группах – по 8 особей. Контролем служили мыши-опухоленосители без воздействия по 8 особей к каждой дозе ФС.

Методы оценки эффективности противоопухолевой терапии

Эффективность ФДТ оценивалась по критериям, рекомендованным в руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (Миронов, 2012, Хабриев, 2005):

1. По коэффициенту абсолютного прироста опухоли (К).

Для этого сначала вычисляли объёмы опухолей по формуле:

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

где: d_1, d_2, d_3 , - три взаимно перпендикулярных диаметра опухоли, V - объём опухоли в см³.

Коэффициент абсолютного прироста опухоли (К) рассчитывали по формуле:

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

где V_0 - объём опухоли до воздействия, V_t - объём опухоли на определенный срок наблюдения;

2. По торможению роста опухоли (ТРО %) по формуле:

$$TPO \% = \frac{V_k - V_o}{V_k} * 100 \%$$

где: V_k - средний объём опухоли в контрольной группе, V_o - средний объём опухоли в опытной группе;

3. По проценту животных в группе с полной регрессией (ПР %) опухоли (К = -1,00). За полную регрессию опухоли принимали отсутствие видимой и пальпируемой опухоли.

4. По проценту излеченных животных – критерием которого принималось отсутствие рецидивирования опухоли в течение 90 суток после ФДТ.

5. Процент увеличения продолжительности жизни вычисляется по формуле:

$$\text{УПЖ} = \frac{\text{СПЖо} - \text{СПЖк}}{\text{СПЖк}} \times 100\%,$$

где: СПЖо – средняя продолжительность жизни опытных животных, сут; СПЖк – средняя продолжительность жизни контрольных животных, сут.

Контроль эффективности лечения также проводился гистохимическими методами на 21 сутки после сеанса ФДТ. Выделенную ткань опухоли в виде пластинок фиксировали 24 ч в жидкости Буэна. После стандартной гистологической проводки ориентированные фрагменты тканей заключали в парафиновую среду Гистомикс на станции заливки HistoStar (Thermo Scientific). Для морфологических исследований депарафинированные срезы толщиной 5 мкм, полученные на микротоме Leica RM2235, окрашивали гематоксилином и эозином (БиоВитрум) и по Ван Гизону для выявления соединительной ткани. Для верификации выживших после ФДТ опухолевых клеток проводили иммуногистохимические исследования с использованием поликлональных кроличьих антител к онкопротеину p53 (FL393, «Santa Cruz», 1:50) и набора для выявления кроличьих первичных антител (EnVision+System-HRP (DAB), «Dako»). При иммуноокрашивании на белок p53 субстратную пероксидазу проявляли аминоэтилкарбазолом (АЕС+, «ДАКО») с докрашиванием ядер клеток гематоксилином и заключением гистологических препаратов в водорастворимую среду (Faramount, «ДАКО»). Гистологические срезы исследовали с помощью микроскопа Leica DM 1000 с микрофотосъемкой на цифровую камеру Leica ICC50 HD при 4-х уровнях увеличений: объективы $\times 2,5$, $\times 10$, $\times 20$ и $\times 40$.

Методы анализа данных и статистики

Полученные результаты для независимых групп статистически обрабатывали в программе Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.). Параметры описательной статистики представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего ($M \pm m$). Для оценки уровня значимости межгрупповых различий полученных показателей использовали U критерий Манна—Уитни. Различия между показателями принимали значимыми при $p < 0,05$.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По данным, полученным в исследовании противоопухолевой эффективности ФДТ саркомы М-1 с препаратом Фоторан Е6, в первой серии опытов значимое увеличение продолжительности жизни крыс зарегистрировано после сеансов ФДТ проведенных через 2,5 часа (в период максимального индекса контрастности опухоль/окружающие ткани) после введения ФС в дозах 5,0 и 10,0 мг/кг с дозой света $E=300 \text{ Дж/см}^2$ и $P_s=0,48 \text{ Вт/см}^2$. Однако результат 100% излеченности был достигнут только на фоне введения максимальной дозы Фоторана Е6. При снижении плотности мощности до $0,25 \text{ Вт/см}^2$ при $E=300 \text{ Дж/см}^2$ и увеличении времени облучения в два раза, во второй серии экспериментов, максимальная противоопухолевая эффективность наблюдалась уже при дозе 5,0 мг/кг (табл. 10).

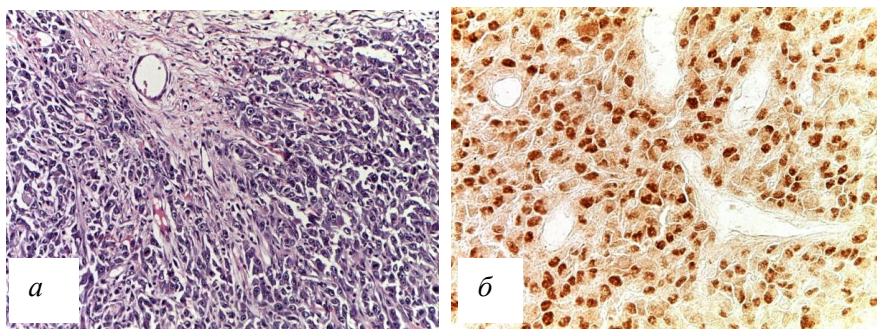
Таблица 10

Продолжительность жизни и процент излеченных животных после ФДТ саркомы М-1 с Фотораном Е6

Параметр		СПЖ, сут	УПЖ, %	Излеченные крысы**, %
Контроль (n=48)		42±3	—	—
I серия ($E=300 \text{ Дж/см}^2$; $P_s=0,48 \text{ Вт/см}^2$)				
Доза Фоторана Е6	2,5 мг/кг, (n=8)	41±7	0	0
	5,0 мг/кг (n=8)	79±16*	90*	40
	10,0 мг/кг (n=8)	>90	>100*	100
II серия ($E=300 \text{ Дж/см}^2$; $P_s=0,25 \text{ Вт/см}^2$)				
Доза Фоторана Е6	2,5 мг/кг (n=8)	42±15	0	60
	5,0 мг/кг (n=8)	>90	>100*	100
	10,0 мг/кг (n=8)	>90	>100*	100

Примечание: СПЖ — средняя продолжительность жизни, УПЖ — увеличение продолжительности жизни; n – число животных; *значимое УПЖ по сравнению с контролем ($\geq 50\%$). **На 90-е сутки исследования.

По данным иммуногистохимического анализа, при оптимальных режимах ФДТ в зонах фотодинамического воздействия выживших опухолевых клеток не обнаружено (рис. 1).



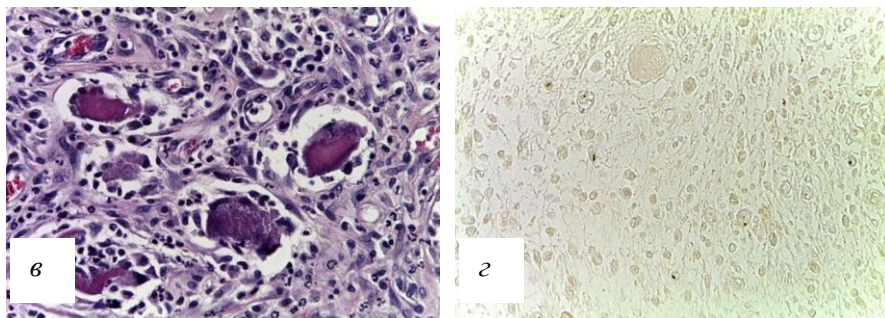


Рисунок 1. Морфология саркомы М-1 в контроле (а, б) и зона воздействия лазерным излучением на 21 сутки после сеанса ФДТ с Фотораном Е6 (в, г).

а — зона роста опухоли с врастанием сосудов в её паренхиму в контроле, окрашивание гематоксилином и эозином, об.×125; б — иммуногистохимическое окрашивание ядер опухолевых клеток с антителами к р53 в контроле, об.×250; в — поглощение макрофагами погибающих структур ткани, окрашивание гематоксилином и эозином, об.×250; г — отсутствие положительной реакции ядер клеток при иммуноокрашивании на белок р53, об.×250.

ФС **Фоторан Е6** показал высокую противоопухолевую активность и в результате проведенных комплексных исследований *in vivo* на **карциноме Эрлиха**. Эффективность ФДТ этой опухоли с Фотораном Е6 также зависит от дозы ФС и параметров лазерного воздействия. Проведение ФДТ в период от 30 до 60 мин после в/в введения ФС в дозе 5,0 мг/кг, в режиме $E=150$ Дж/см² и $P=0,48$ Вт/см² позволяет достичь полной регрессии опухолевых узлов и отсутствия их рецидивирования на протяжении трех месяцев наблюдений (табл. 11), что подтверждается патоморфологическими исследованиями.

Таблица 11

Продолжительность жизни и процент излеченных животных после ФДТ с введением Фоторана Е6 в дозе 5,0 мг/кг при различных параметрах воздействия лазерным излучением на карциному Эрлиха мышей

Параметр	СПЖ, сутки	УПЖ, %	Излеченные животные**, %
Контроль (n=32)	51±2	-	-
$E=100$ Дж/см ² ; $P_s=0,25$ Вт/см ² , (n=8)	-	-	-
$E=100$ Дж/см ² ; $P_s=0,48$ Вт/см ² , (n=8)	58±5	12	50
$E=150$ Дж/см ² ; $P_s=0,48$ Вт/см ² , (n=8)	>90	>100*	100
$E=150$ Дж/см ² ; $P_s=1,02$ Вт/см ² , (n=8)	71±10	29	71

Примечание: СПЖ — средняя продолжительность жизни, УПЖ — увеличение продолжительности жизни; n-число животных; *значимое УПЖ по сравнению с контролем ($\geq 50\%$), **На 90-е сутки исследования.

Максимальный противоопухолевый ответ при лечении **меланомы В16** с ФС **Фоторан Е6** достигался при в/в введении препарата в дозе 5 мг/кг, и последующим через 60 минут облучением в режиме: $E=150$ Дж/см², $P_s=0,25$ Вт/см². При этом сочетании параметров терапии полная регрессия меланомы наблюдалась в 100%

случаев вплоть до 90 суток после облучения (табл. 12), что подтверждается результатами гистологических исследований.

Таблица 12

Процент животных с полной регрессией опухоли после ФДТ с Фотораном Е6 при различных параметрах воздействия лазерным излучением на меланому В16 мышей

Параметр	Полная регрессия, % на 90 сут
Контроль, (n=32)	-
5,0 мг/кг, E=115 Дж/см ² ; Ps=0,48 Вт/см ² , (n=8)	89
2,5 мг/кг, E=150 Дж/см ² ; Ps=0,48 Вт/см ² , (n=8)	80
5,0 мг/кг, E=150 Дж/см ² ; Ps=0,48 Вт/см ² , (n=8)	86
5,0 мг/кг, E=150 Дж/см ² ; Ps=0,25 Вт/см ² , (n=8)	100

Примечание: n-число животных.

На основании анализа полученных результатов представляется важным отметить большую значимость такого параметра, как время экспозиции. Снижение плотности мощности света с одновременным увеличением при этом продолжительности воздействия лазером с 5 до 10 минут привело к повышению доли полностью излеченных животных на 14%. Также при уменьшении плотности мощности энергии лазерного облучения существенно снижается выраженность повреждений здоровых тканей в зоне фотодинамического воздействия. Менее выраженная инфильтрация ткани под струпом нейтрофильными лейкоцитами в последней группе отражает более легкое выздоровление после проведенного сеанса фотодинамической терапии.

Фоторан Е6, уже разрешен для клинического применения, в качестве воспроизведенного препарата, но противоопухолевая эффективность самого этого дженерика на биологических моделях ранее не изучалась, а у оригинального препарата Фотолон® (Белмедпрепараты, Беларусь) доклинические исследования на саркоме М-1 крыс проводились, но противоопухолевая эффективность оценивалась только по величине площади некрозов через 24 часа после проведения сеанса ФДТ с препаратом. Доклинических исследований противоопухолевой эффективности Фотолон® на опухолевых моделях карциномы Эрлиха и меланомы В16 не проводилось.

Таким образом, в результате проведенных комплексных исследований в диссертационной работе показано, что Фоторан Е6 характеризуется высокой эффективностью и безопасностью. В процессе исследований на различных

морфологических типах опухолей была выявлена высокая селективность накопления ФС в опухолевых узлах с высоким индексом контрастности по отношению к окружающим тканям и высокий противоопухолевый эффект от проведения ФДТ с данным препаратом.

Фотодинамическая терапия **саркомы М-1** с **ЛБХ**, проводимая через 3,5-4 часа после в/б введения ФС во всех исследованных дозах: 0,75; 1,25; 2,5; 5,0 мг/кг и с параметрами лазерного воздействия: $E=150$ Дж/см² и $P_s=0,25$ Вт/см² вызывала значимый противоопухолевый ответ (от 70 до 100% излеченных животных). Максимальный ингибирующий эффект для саркомы М-1 крыс (полная регрессия опухоли) получен при введении ЛБХ в дозе 2,5 мг/кг и последующем облучении со световой дозой: $E=150$ Дж/см²; $P_s=0,25$ Вт/см².

При лечении **карциномы Эрлиха** с **ФС ЛБХ** ингибирующий эффект получен во всех исследуемых группах животных после проведения сеанса ФДТ через 1-2 часа после в/б введения ФС в дозах: 0,70; 1,25; 2,5 мг/кг и с применением следующих параметров лазерного воздействия: $E=100$ Дж/см² и $P_s=0,28$ и $0,48$ Вт/см². Полная регрессия карциномы Эрлиха у 100% животных до 21 суток после проведения ФДТ достигнута при в/б введении ЛБХ в дозе 2,5 мг/кг, и световой дозе $E=100$ Дж/см² и $P_s=0,48$ Вт/см². И в этой же группе зарегистрирован самый высокий уровень излеченности на 90 сутки после сеанса ФДТ - 80% животных.

При в/в введении ФС и проведении сеанса лазерного воздействия через 60-90 минут после этого, полная регрессия опухоли у 100% животных до 21 суток после проведения ФДТ наблюдалась при дозе ЛБХ - 1,25 мг/кг и световой дозе: $E=150$ Дж/см²; $P_s=0,48$ Вт/см². Проведенные патоморфологические исследования тканей зоны лазерного воздействия и окружающих тканей, свидетельствуют о том, что данный препарат эффективно действует в низкой дозе, за счет чего при лизисе погибающих клеток привлекаются клетки иммунной системы и продукты распада успевают перевариваться соседними клетками и макрофагами без токсического воздействия на окружающие ткани.

Противоопухолевый эффект ФДТ с **ЛБХ** на **меланоме В16** зависел от доз фотосенсибилизатора и световой дозы. Исходя из результатов проведенных исследований динамики накопления ФС в опухолевых узлах и окружающих их тканях, оптимальное время лазерного воздействия - через 2 часа после введения ЛБХ. При проведении ФДТ в оптимальные сроки, а также при подборе доз ФС и

параметров лазерного облучения, была получена полная регрессия опухолей у 100% животных до 21 суток после сеанса терапии с дозой ЛБХ - 10 мг/кг и при параметрах лазерного воздействия $E=300 \text{ Дж/см}^2$ и $P_s=0,44 \text{ Вт/см}^2$.

На основе результатов проведенных исследований (начатых ранее В.В. Дрожжиной, Ю.С. Осипчук под руководством М.А. Каплана) показано, что отечественный ФС липосомальный борированный хлорин е6 обладает высокой противоопухолевой активностью *in vivo*. Путем подбора доз ФС и параметров лазерного воздействия был получен максимальный ингибирующий эффект (полная регрессия опухоли у 100% животных до 21 суток после проведения ФДТ) на всех исследованных опухолевых моделях: саркоме М-1 крыс, меланоме В16 и карциноме Эрлиха мышей.

Проведенные исследования с ФС хлорин е6 с ПСМА-лигандом на меланоме В16 показали, что ФС быстро и с высокой избирательностью накапливается в опухолевых тканях. Лазерное воздействие с параметрами $E=144 \text{ Дж/см}^2$, $P_s=0,48 \text{ Вт/см}^2$ проведенное через 45 - 60 минут после в/в введения ФС в дозе 2,5 мг/кг позволяет достичь 100% эрадикации опухолевых узлов и отсутствия рецидивирования на протяжении трех месяцев наблюдений с быстрым заживлением без образования рубцов и отсутствием деструктивных повреждений здоровых тканей в области лазерного воздействия, что подтверждается данными иммуногистохимического анализа. Это предположительно достигается за счет высокой селективности накопления ФС в опухоли, обусловленного захватом ПСМА-лиганда ФС рецепторами ПСМА клеток меланомы мышей.

Таким образом, в ходе выполнения диссертационной работы была проведена оценка эффективности трех отечественных ФС, принадлежащих к классу хлориновых соединений. Были установлены в эксперименте *in vivo* закономерности накопления этих фотосенсибилизаторов в тканях перевиваемых опухолей и окружающих их тканях на модели лабораторных животных. Были определены оптимальные ЛСВИ для проведения лазерного воздействия после введения исследуемых ФС, в течение которых наблюдается повышенное накопление их в опухолевых тканях по сравнению с окружающими здоровыми тканями (Табл. 13).

Таблица 13

Оптимальные лекарственно-световые интервалы для проведения лазерного воздействия после введения (внутривенного и внутрибрюшинного) Фоторана еб, ЛБХ и хлорина еб с ПСМА-лигандом

	Фоторан еб		ЛБХ		Хлорин еб с ПСМА-лигандом
	в/в	в/б	в/в	в/б	в/в
Саркома М-1	90-120 мин	150-180 мин	-	210-240 мин	-
Карцинома Эрлиха	30-60 мин	180-210 мин	60-90 мин	60-120 мин	-
Меланома В16	50-60 мин	-	-	90-120 мин	45-60 мин

Установлено, что фотодинамическая терапия с препаратом Фоторан Еб и ЛБХ подавляет рост саркомы М-1, карциномы Эрлиха и меланомы В16 при всех исследованных дозах ФС и параметрах облучения. ФДТ с хлорином еб с ПСМА-лигандом подавляет рост меланомы В16 при всех исследованных дозах ФС и параметрах облучения. Средняя продолжительность жизни по сравнению с контролем увеличивалась во всех опытных группах. Таким образом, установлена высокая эффективность данных фотосенсибилизаторов и показана перспективность их применения для терапии злокачественных опухолей различного гистогенеза.

На основании подбора параметров лазерного воздействия разработаны методики проведения ФДТ, применение которых позволяет добиться полного излечения экспериментальных опухолей различного гистогенеза с каждым из изученных фотосенсибилизаторов вплоть до 90 суток после сеанса ФДТ (Табл. 14).

Режимы проведения ФДТ, приводящие к полному излечению изученных опухолей вплоть до 90 суток после сеанса ФДТ

		Фоторан Е6	ЛБХ		Хлорин Е6 с ПСМА- лигандом
Саркома М-1	Доза ФС, мг/кг	5,0	2,5		
	Е, Дж/см ²	300	150		
	Рs, Вт/см ²	0,25	0,25		
Карцинома Эрлиха	Доза ФС, мг/кг	5,0	1,25	2,50	
	Е, Дж/см ²	150	150	100	
	Рs, Вт/см ²	0,48	0,48	0,48	
Меланома В16	Доза ФС, мг/кг	5,0	10,0		2,5
	Е, Дж/см ²	150	300		144
	Рs, Вт/см ²	0,25	0,44		0,48

При сравнении полученных параметров между собой обращает на себя внимание высокая эффективность действия на саркому М-1 крыс режимов проведения ФДТ с более длительным облучением с относительно низкой плотностью мощности 0,25 Вт/см², по сравнению с карциномой Эрлиха – на эту опухоль эффективнее оказывали ингибирующее влияние режимы с коротким, но более интенсивным облучением. Что же касается меланомы В16 – добиться ее элиминации с наименьшими параметрами проведения облучения и небольшой дозой вводимого ФС удалось с хлорином е6 конъюгированным с ПСМА-лигандом.

Следует отметить тот факт, что все три исследованных ФС, дают возможность добиваться элиминации экспериментальных опухолей гораздо эффективнее, чем другие препараты хлоринового ряда, давно используемые в клинической практике. Они приводят к полному противоопухолевому ответу при меньших дозах ФС и при более щадящих режимах лазерного воздействия. Для сравнения в Таблице 15 приводятся сведения по параметрам ФДТ, приводящим к полной регрессии опухоли Саркома М-1 лабораторных животных до 21 суток с различными ФС хлоринового ряда. Эти данные были получены ранее сотрудниками лаборатории экспериментальной фотодинамической терапии МРНЦ им. А.Ф. Цыба (Бурмистрова Н.В., Дрожжина В.В., Михайловская А.А., Осипчук Ю.С. под руководством М.А. Каплана) на том же оборудовании, с применением тех же методик и на тех же тест-моделях.

Режимы проведения ФДТ, приводящие к полной регрессии саркомы М-1 крыс на 21 сутки после сеанса ФДТ

	Саркома М-1		
	Доза ФС, мг/кг	Е, Дж/см ²	Ps, Вт/см ²
Хлорин еб	10,0	200	0,51
Радахлорин	10,0	300	0,36
Борированный хлорин	5,0	300	0,25
Фотодитазин	10,0	600	0,51
Фотолон	10,0	300	0,51
Амидоаминхлорин	2,5	300	0,51
Липосомальный амидоаминхлорин	1,25	150	0,51

При сравнении видно, что разработанные в диссертационной работе методики проведения ФДТ саркомы М-1 отличаются тем, что требуют введения более низких доз новых фотосенсибилизаторов и гораздо более щадящих режимов лазерного воздействия для достижения аналогичного терапевтического ответа, чем с используемыми сейчас в лечебной практике препаратами.

Полученные данные важны для понимания особенностей терапевтического действия ФДТ с данными ФС хлоринового ряда. Присоединение к хлорину еб лиганда таргетного к ПСМА-рецепторам, предположительно имеющимся в меланоме В-16 мышей, улучшает проникновение хлорина еб в опухолевые клетки и позволяет добиться полной регрессии опухоли. Включение бора в состав хлоринового фотосенсибилизатора в липосомальной форме повышает опухолетропность и фотодинамическую эффективность, а также делает перспективным применение данного ФС в методиках, включающих сочетание ФДТ с нейтрон-захватной терапией. Все это обуславливает перспективность дальнейших испытаний данных веществ в клинической практике.

ВЫВОДЫ

1. Установлены закономерности накопления ФС в основных типах перевиваемых опухолей – саркоме М-1, карциноме Эрлиха и меланоме В-16 и в окружающих их тканях на моделях лабораторных животных. Проведена оценка селективности накопления ФС в опухолевых узлах. Установлено оптимальное время для проведения лазерного воздействия после введения исследуемых ФС для каждого исследованного гистотипа опухолей.

2. ФДТ с ФС хлоринового ряда: Фотораном Е6 и ЛБХ подавляет рост основных типов перевиваемых опухолей – саркомы М-1 крыс, карциномы Эрлиха мышей и меланомы В-16 мышей, а ФДТ с хлорином е6 с ПСМА-лигандом подавляет рост меланомы В-16 мышей при всех исследованных дозах ФС и параметрах облучения. Средняя продолжительность жизни по сравнению с контролем увеличивалась во всех опытных группах. Таким образом, установлена высокая эффективность и перспективность применения данных фотосенсибилизаторов.
3. На основании подбора параметров лазерного воздействия разработаны режимы проведения ФДТ, применяя которые возможно добиться полного излечения экспериментальных опухолей различного гистогенеза с каждым из изученных фотосенсибилизаторов вплоть до 90 суток после сеанса ФДТ
4. Высокий противоопухолевый эффект разработанных методик проведения ФДТ подтвержден данными гистологических исследований. При оптимальных режимах проведения ФДТ в зонах фотодинамического воздействия на 21-е сутки после терапии выживших опухолевых клеток не обнаружено.
5. Все изученные фотосенсибилизаторы перспективны для дальнейших испытаний в качестве высокоэффективных клинических препаратов.

СПИСОК НАУЧНЫХ ТРУДОВ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Абрамова, О.Б. Фотодинамическая терапия карциномы Эрлиха мышей с липосомальным борированным хлорином е6 / **О.Б. Абрамова**, В.В. Дрожжина, Т.П. Чурикова [и др.] // Радиация и Риск. Москва. — 2020. — Том 29, №3. С. 42-51
2. Абрамова, О.Б. Фотодинамическая терапия саркомы М-1 крыс с фотосенсибилизатором Фоторан Е6 / **О.Б. Абрамова**, В.В. Южаков, М.А. Каплан [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. Москва. — 2020. — Т. 170, № 10. С. 492-498
Abramova, O.B. Photodynamic Therapy of Sarcoma M-1 in Rats with Photosensitizer Photoran E6 / **O.B. Abramova**, V.V. Yuzhakov, M.A. Kaplan *et al* // *Bull Exp Biol Med* . — 2021. — 170, 479–484
3. Бурмистрова, Н.В. Фотодинамическая активность липосомального борированного хлорина е6 / Н.В. Бурмистрова, В.В. Дрожжина, **О.Б. Абрамова** [и др.] // Радиация и риск. Москва. — 2019. — Т. 28, № 4. С. 96-107

4. Абрамова, О.Б. Фотодинамическая терапия меланомы В16 с использованием конъюгата хлорина е6 с ПСМА-лигандом / **О.Б. Абрамова**, М.А. Каплан, М.А. Грин [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2021. — № 4. – С. 481-485

Abramova, O.B. Photodynamic Therapy of Melanoma B16 with Chlorin E6 conjugated with a PSMA-ligand / **O.B. Abramova**, M.A. Kaplan, M.A. Grin *et al* // *Bull Exp Biol Med* . — 2021. — 171, 468–471

5. Абрамова, О.Б. Одноразовое устройство для фиксации мелких лабораторных животных для проведения фотодинамической терапии / **О.Б. Абрамова** // Патент РФ № 190718, 2019 г.

6. Абрамова, О.Б. Способ фотодинамической терапии перевивной поверхностной солидной соединительнотканной саркомы М-1 крыс / **О.Б. Абрамова**, В.В. Дрожжина, М.А. Каплан // Патент РФ № 2704202, 2019 г.

7. Абрамова, О.Б. Способ фотодинамической терапии перевивной эктодермальной опухоли меланомы В16 мышей / **О.Б. Абрамова**, В.В. Дрожжина, Т.П. Чурикова [и др.] // Патент РФ № 2724867, 2020 г.

8. Каприн, А.Д. Способ фотодинамической терапии перевивной опухоли меланома В16 мышей с фотосенсибилизатором хлоринового ряда с ПСМА-лигандом / А.Д. Каприн, С.А. Иванов, **О.Б. Абрамова** [и др.] // Патент РФ № 2739193, 2020 г.

9. Абрамова, О.Б. Способ оценки противоопухолевой эффективности фотодинамической терапии / **О.Б. Абрамова**, В.В. Дрожжина, Е.А. Береговская [и др.] // Патент РФ № 2738301, 2020 г.

10. Абрамова, О.Б. Систематизация результатов исследований по параметрам фотодинамической терапии с различными фотосенсибилизаторами, приводящими к регрессии и полному излечению экспериментальных перевиваемых опухолей у лабораторных животных / **О.Б. Абрамова**, В.В. Дрожжина, Е.А. Береговская, Т.П. Чурикова // БД № 2019621515, 2019 г.

11. Абрамова, О.Б. Мультимедийная лекция на тему: "Изучение противоопухолевой эффективности фотодинамической терапии" / **О.Б. Абрамова** // БД № 2019621561, 2019 г.

12. Абрамова, О.Б. Систематизация результатов исследований по параметрам фотодинамической терапии с фотосенсибилизаторами хлоринового ряда, приводящим к регрессии и полному излечению экспериментальных перевиваемых

опухолей у лабораторных животных / **О.Б. Абрамова**, В.В. Дрожжина, Е.А. Береговская [и др.] // БД № 2019621829, 2019 г.

13. Абрамова, О.Б. Соотношение морфологических характеристик клеток периферической крови и интегральных медицинских показателей на разных стадиях развития меланомы В16 мышей и после проведения фотодинамической терапии с Фотораном Е6, приводящей к полному излечению опухоли / **О.Б. Абрамова**, В.В. Дрожжина, Е.А. Береговская [и др.] // БД №2020621986, 2020 г.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АФК – активные формы кислорода

ИК – индекс контрастности

К – коэффициент абсолютного прироста опухоли

КЭ – карцинома Эрлиха

ЛБХ – липосомальный борированный хлорин е6

ЛСВИ – лекарственно-световой интервал

нм – нанометр

Отн. ед. – относительные единицы

ПВП – поливинилпирролидон

ПР% – полная регрессия опухоли

ПСМА – простат специфический мембранный антиген

СПЖ – средняя продолжительность жизни

ТРО% – торможение роста опухоли

УПЖ% – увеличение продолжительности жизни по сравнению с контролем

ФДТ – фотодинамическая терапия

ФС – фотосенсибилизатор

Е – плотность энергии лазерного излучения

Ps – плотность мощности лазерного излучения

в/в – внутривенно

в/б – внутрибрюшинно