

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2023-22-3-75-86>

Комбинированная фотодинамическая и радиодинамическая терапии с хлориновым фотосенсибилизатором при фракционированном лучевом воздействии на перевивные опухоли в эксперименте *in vivo*

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

¹ГУ «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова»; Республика Беларусь, 223040 Минская область, Минский район, аг. Лесной;

²УО «Витебский государственный университет им. П.М. Машерова»; Республика Беларусь, 210038 Витебск, пр-т Московский, 33;

³Минская областная клиническая больница; Республика Беларусь, 223040 Минская область, Минский район, аг. Лесной

Контакты: Дмитрий Александрович Церковский tzerkovsky@mail.ru

Введение. Актуальным направлением научных исследований в экспериментальной и клинической онкологии является радиодинамическая терапия (РДТ) – метод лечения, основанный на активации фотосенсибилизаторов (ФС) ионизирующим излучением. Как показывают результаты *in vitro/in vivo* исследований, ряд фотосенсибилизирующих агентов обладают радиомодифицирующими свойствами, а сам метод характеризуется высокой противоопухолевой эффективностью.

Цель исследования – изучить возможность повышения эффективности фотодинамической терапии (ФДТ) за счет ее комбинированного применения с РДТ в эксперименте *in vivo*.

Материалы и методы. Работа выполнена на 26 белых нелинейных крысах с массой тела 180 ± 50 г. В качестве опухолевой модели использовали лимфосаркому Плисса (ЛСП), которую перевивали подкожно. ФС, представляющий собой тринатриевую соль хлорина е6 («Белмедпрепараты», Беларусь), вводился внутривенно в дозе 2,5 мг/кг массы тела. Сеанс РДТ проводили через 2,5–3,0, 24 и 48 ч после окончания инфузии ФС контактным методом (КЛТ) на аппарате microSelectron-HDR V3 Digital (Elekta, Швеция) с использованием γ -излучения (^{192}Ir) в разовой очаговой дозе (РОД) 2 Гр до достижения суммарной очаговой дозы (СОД) 6 Гр. Сеанс ФДТ осуществляли однократно непосредственно после первого воздействия ионизирующим излучением с помощью полупроводникового лазера PDT diode laser (Imaf Axicon, Беларусь, $\lambda = 660 \pm 5$ нм) в экспозиционной дозе 100 Дж/см² с 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, ФС + ФДТ, ФС + КЛТ, ФС + КЛТ + ФДТ. Критериями оценки противоопухолевой эффективности были: средний объем опухолей (V_{cp}), коэффициент абсолютного прироста опухолей (К), коэффициент торможения роста опухолей (ТРО), частота полных опухолевых регрессий (ПР), доля излеченных крыс, показатель увеличения средней продолжительности жизни (УПЖ) павших крыс. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты. На 18-е сутки эксперимента V_{cp} в группах составил $65,98 \pm 0,81$ см³; $24,02 \pm 4,01$ см³ ($p < 0,00001$); $17,11 \pm 4,13$ см³ ($p < 0,00001$); $4,42 \pm 1,65$ см³ ($p < 0,00001$) соответственно. Коэффициенты К – 5497,33 ОЕ, 1714,71 ОЕ, 1424,83 ОЕ, 367,33 ОЕ. Коэффициенты ТРО – 63,60 % (ФС + ФДТ); 74,07 % (ФС + КЛТ); 93,30 % (ФС + КЛТ + ФДТ). Показатель УПЖ – 25,31 % (ФС + ФДТ); 55,06 % (ФС + КЛТ); 158,22 % (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 42,9 % соответственно.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о наличии у хлоринового ФС помимо фотосенсибилизирующих свойств также и радиомодифицирующих, а разработанный метод комбинированной терапии характеризуется высокой противоопухолевой эффективностью.

Ключевые слова: крысы, перевивные опухоли, фотодинамическая терапия, радиодинамическая терапия, фотосенсибилизатор

Для цитирования: Церковский Д.А., Мазуренко А.Н., Козловский Д.И. и др. Комбинированная фотодинамическая и радиодинамическая терапии с хлориновым фотосенсибилизатором при фракционированном лучевом воздействии на перевивные опухоли в эксперименте *in vivo*. Российский биотерапевтический журнал 2023;22(3): 75–86. DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-3-75-86

Combined photodynamic and radiodynamic therapy with a chlorine photosensitizer under fractionated radiation exposure to transplanted tumors in an *in vivo* experiment

Dmitry A. Tzerkovsky¹, Alexandr N. Mazurenko², Denis I. Kozlovsky¹, Natalia D. Adamenko², Fedor F. Borichevsky³

¹N. N. Alexandrov National Cancer Center of Belarus; Lesnoy, Minsk region 223040, Republic of Belarus;

²P. M. Masherov Vitebsk State University; 33 Moskovskiy ave., Vitebsk 210038, Republic of Belarus;

³Minsk Regional Clinical Hospital; Lesnoy, Minsk region 223040, Republic of Belarus

Contacts: Dmitry Alexandrovich Tzerkovsky tzerkovsky@mail.ru

Introduction. The current direction of scientific research in experimental and clinical oncology is radiodynamic therapy (RDT), a treatment method based on the activation of photosensitizers (PS) by ionizing radiation. As the results of *in vitro/in vivo* studies show, a number of photosensitizing agents have radiomodifying properties, and the method itself is characterized by high antitumor efficacy.

Aim. To study the possibility of increasing the effectiveness of photodynamic therapy (PDT) through its combined use with RDT in an *in vivo* experiment.

Materials and methods. The work was performed on 26 white non-linear rats weighing 180 ± 50 g. Pliss lymphosarcoma was used as a tumor model, which was transplanted subcutaneously. The chlorine-based PS (Belmed-preparaty, Republic of 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) after 2.5–3, 24 and 48 hours after the end of PS administration on the microSelectron-HDR V3 Digital device (Elekta, Sweden) using γ -radiation (^{192}Ir) in a single focal dose (SFD) of 2 Gy until the total focal dose of 6 Gy is reached. A PDT session was performed once immediately after the first exposure to ionizing radiation using a PDT diode laser (Imaf Axicon, Republic of 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 W. All rats were divided into 4 groups of 6–7 animals each: intact control, PS + PDT, PS + CRT, PS + CRT + PDT. The criteria for evaluating antitumor efficacy were: the average volume of tumors (V_{av}), the coefficient of absolute growth of tumors (K), 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 $p < 0.05$.

Results. On the 18th day of the experiment, V_{av} in groups was 65.98 ± 0.81 cm³; 24.02 ± 4.01 cm³ ($p < 0.00001$); 17.11 ± 4.13 cm³ ($p < 0.00001$); 4.42 ± 1.65 cm³ ($p < 0.00001$), respectively. Coefficients K – 5497.33 OE; 1714.71 OE; 1424.83 OE; 367.33 OE. TGI coefficients – 63.60 % (PS + PDT); 74.07 % (PS + CRT); 93.30 % (PS + CRT + PDT). An increase in the average duration of dead rats indicator – 25.31 % (PS + PDT); 55.06 % (PS + CRT); 158.22 % (PS + CRT + PDT). On the 60th and 90th days of the experiment, the frequency of CR and the proportion of cured rats were the same and amounted to 0; 16.7; 14.3 and 42.9 %, respectively.

Conclusion. The results obtained indicate that the chlorine PS has, in addition to photosensitizing properties, also radiomodifying properties, and the developed method of combined therapy is characterized by high antitumor efficacy.

Key words: rats, transplanted tumors, photodynamic therapy, radiodynamic therapy, photosensitizer

For citation: Tzerkovsky D.A., Mazurenko A.N., Kozlovsky D.I. et al. Combined photodynamic and radiodynamic therapy with a chlorine photosensitizer under fractionated radiation exposure to transplanted tumors in an *in vivo* experiment. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2023;22(3):75–86. DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-3-75-86

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) представляет собой высокоэффективный метод лечения пациентов с предопухолевыми заболеваниями и злокачественными новообразованиями [1]. В качестве одного из его основных компонентов выступают специальные вещества – фотосенсибилизаторы (ФС), способные к фото-

сенсибилизации биологических тканей, т.е. к увеличению их чувствительности к свету [2]. В классическом понимании для запуска каскада сложных фотохимических реакций в опухолевых клетках и тканях, приводящих к их летальному повреждению, используется излучение с определенной длиной волны, генерируемое различными лазерными аппаратами и приборами [3].

Тем не менее в последние годы учеными ряда крупных научных центров США, Японии и Италии предприняты успешные попытки применения в качестве активирующего ФС физического фактора ионизирующего излучения, а данное направление получило название «радиодинамическая терапия» (РДТ) [4]. Как свидетельствуют полученные в экспериментах *in vitro* и *in vivo* результаты, комбинированное использование ФС и ионизирующего излучения приводит к статистически значимому уменьшению числа жизнеспособных опухолевых клеток и более выраженному торможению роста различных перевивных опухолей по сравнению с лучевой терапией (ЛТ) в монорежиме [4–6]. В США (2020) и Германии (2022) начаты I/II фазы клинических испытаний, целью которых является изучение безопасности, переносимости и оптимальных терапевтических режимов метода РДТ с 5-аминолевулиновой кислотой (5-АЛК) у пациентов с III–IV стадиями злокачественных новообразований головы и шеи, грудной и брюшной полостей, малого таза, а также с рецидивными формами глиобластомы [7, 8].

Предшествующие исследования, выполненные на базе Республиканского научно-практического центра онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова (аг. Лесной, Республика Беларусь) в 2022 г., были направлены на изучение радиомодифицирующих свойств белорусского ФС, представляющего собой тринатриевую соль хлорина еб, при его комбинированном применении с ионизирующим излучением в однократном режиме воздействия в разовых очаговых дозах (РОД) 2, 4 и 6 Гр. Пилотные данные, полученные на основании анализа непосредственных и отдаленных результатов экспериментального исследования на крысах с лимфосаркомой Плисса (ЛСП), свидетельствовали о тенденции к достижению более выраженного противоопухолевого эффекта комбинированного лечения, включающего применение ФС с последующим проведением сеансов ЛТ в РОД 4 и 6 Гр, по сравнению с ЛТ в монорежиме [9]. Открытым остается вопрос применения ФС и ЛТ во фракционированном режиме облучения.

Для повышения противоопухолевой эффективности ФДТ целесообразно комбинированное и сочетанное применение метода с традиционными подходами в лечении злокачественных новообразований, в частности с ЛТ [10]. Основная научная гипотеза данной комбинации — 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 серьезных нежелательных реакций, имеющих место при применении высоких доз указанных физических факторов.

Цель исследования — изучение возможности повышения противоопухолевой эффективности ФДТ с тринатриевой солью хлорина еб за счет ее комбинированного применения с РДТ с использованием фракционированного режима облучения перевивных опухолей.

Материалы и методы

Лабораторные животные. Пилотное исследование выполнено на 26 белых нелинейных беспородных крысах-самцах, полученных из вивария Республиканского научно-практического центра онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова, с массой тела 180 ± 50 г, в возрасте 2,5–3 мес. Длительность карантина перед включением в эксперимент составляла 14 сут. Крысы содержались в стандартных условиях пищевого и питьевого рациона *ad libitum*, при 12-часовом режиме освещения, при температуре 20–22 °С и влажности 50–60 % в индивидуальных клетках по 5–7 особей в каждой. Условия содержания крыс в лаборатории, а также 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 межгосударственным стандартам (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», утвержденным Постановлением Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации, протокол от 22.12.2014 г. № 73-П).

Опухолевый штамм. В качестве опухолевого штамма использовали ЛСП (Российская коллекция клеточных культур, Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). Данный опухолевый штамм был получен Г.Б. Плиссом в 1960 г. от крысы-самки, которая с рождения получала диету, содержащую 3,3-дихлорбензидин. Опухоль состоит из мелких и крупных лимфоидных клеток (лимфобластов) с высокой митотической активностью. Перевиваемость штамма составляет 75–100 %. Опухоль растет быстро. Продолжительность жизни крыс с перевивными опухолями варьирует от 12 до 95 сут.

Опухолевая модель. Опухолевую модель у крыс создавали путем подкожного пассивирования *in vivo*. Подкожная перевивка включала введение под кожу левой паховой области 0,5 мл взвеси опухолевых

клеток в 20 % растворе Хенкса. ЛСП относится к числу быстрорастущих опухолей с коротким латентным периодом, в связи с чем крыс с ЛСП включали в эксперимент на 6-е сутки после перевивки по достижению диаметра опухолевого узла в среднем 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. ТПК 125–2008 «Надлежащая лабораторная практика» (GLP) (постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 56 от 28.03.2008 г.). Характер выполняемых исследований соответствовал ряду принципов 3Rs, разработанных W.M. Russell 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.

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

Выполнение исследования одобрено Комитетом по этике Республиканского научно-практического центра онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова (выписка из протокола от 25.02.2022 г. № 180).

Фото- и радиосенсибилизатор. В качестве лекарственного средства использовали инъекционную форму ФС, представляющего собой тринатриевую соль хлорина е6, («Белмедпрепараты», Республика Беларусь). Вспомогательное вещество – повидон с К-значением 17. ФС представлял собой порошок лиофилизированный для приготовления раствора для внутривенного введения в виде пористой массы зеленовато-черного цвета, 100 мг (регистрационный номер 16/11/886 от 08.11.2016 г.). Перед использованием порошок разводили 0,9 % раствором хлорида

натрия до концентрации 1 мг/мл и вводили путем внутривенной инфузии в хвостовую вену крысы в условиях затемненного помещения в дозе 2,5 мг/кг.

Радиодинамическая терапия. Облучение перевивных опухолей осуществлялось контактным методом (контактная лучевая терапия, КЛТ) на аппарате microSelectron-HDR V3 Digital (Elekta, Швеция) с использованием γ -излучения (^{192}Ir). Источник имел высокую активность (на момент начала экспериментов она составила 5,2 Ci), что обусловило высокую мощность дозы и короткую продолжительность сеансов облучения, необходимые для крыс, находящихся в состоянии медикаментозного сна. Для проведения КЛТ на область перевивной опухоли использовался аппликатор Leipzig, фиксированный на поверхности опухоли с помощью мягких резиновых держалок. Облучение проводилось фракционированно: первое облучение – в РОД 2 Гр через 2–2,5 ч после окончания инфузии, второе и третье – в РОД 2 Гр через 24 ч и 48 ч после введения ФС соответственно. Суммарная очаговая доза (СОД) составила 6 Гр. Расчет времени сеанса облучения проводился на системе планирования Oncentra Brachy v4.5.2 (Elekta, Швеция) на пустой серии изображений с использованием алгоритма G-43 без учета отражения и рассеивания излучения внутри аппликатора. Использовалась методика 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 др. Используемая методика облучения позволила подвести запланированные РОД на перевивные опухоли у крыс без переоблучения нормальных окружающих опухоль тканей.

Фотодинамическая терапия. Сеансы ФДТ осуществляли однократно непосредственно после окончания первого воздействия ионизирующим излучением с помощью полупроводникового лазера PDT diode laser (Imaf Axicon, Республика Беларусь) с длиной волны излучения 660 ± 5 нм. Фотооблучение перевивных опухолей начинали через 2,5–3 ч после окончания инфузии ФС в экспозиционной дозе 100 Дж/см² с плотностью мощности 0,2 Вт/см² и мощностью 0,353 Вт. Продолжительность воздействия составила 8 мин.

Дизайн экспериментального исследования. Все воздействия производились на 6-е сутки после перевивки ЛСП по достижению диаметра опухолевого узла не менее 3–6 мм. Все крысы – 26 особей, включенных в исследование, – случайным образом распределены на 4 группы по 6–7 особей в каждой:

1. ФС 2,5 мг/кг + КЛТ РОД 2 Гр, СОД 6 Гр.
2. ФС 2,5 мг/кг + ФДТ 100 Дж/см², 0,2 Вт/см².
3. ФС 2,5 мг/кг + КЛТ РОД 2 Гр, СОД 6 Гр + ФДТ 100 Дж/см², 0,2 Вт/см².

4. Интактный контроль (ИК) – крысы с перевивными опухолями, которым не вводился ФС и не осуществлялось облучение.

Критерии оценки противоопухолевой эффективности

Оценку противоопухолевой эффективности воздействий осуществляли по общепринятым в экспериментальной онкологии показателям, характеризующим динамику изменения среднего объема опухолей (V_{cp} , в $см^3$), а также изменение коэффициента абсолютного прироста опухоли (К) и коэффициента торможения роста опухолей (ТРО). Динамику роста перевивных опухолей регистрировали начиная с 6-х суток 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 $см^3$).

Коэффициент абсолютного прироста опухоли (К) 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.

При $K > 0$ (V на соответствующем сроке наблюдения превышал его исходное значение) ситуация расценивалась как продолженный рост опухоли; при $-1 < K < 0$ (V на соответствующем сроке наблюдения был меньше его исходного значения) – как торможение роста опухоли; при $K = -1$ – как полная регрессия опухоли.

ТРО рассчитывали по формуле (3):

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

где $V_{контроля}$ – средний объем опухоли в контрольной группе (в $см^3$); $V_{опыта}$ – средний объем опухоли в основной группе (в $см^3$).

Минимально значимый критерий, демонстрирующий эффективность лечения перевивных опухолей, считался при ТРО $> 50\%$.

Частота полных регрессий (ПР) и частота излеченности крыс оценивалась через 60 и 90 сут после окончания воздействий при отсутствии визуальных и пальпаторных признаков опухолевого роста.

Количественные критерии оценки ингибирующего эффекта на перевивных опухолях у крыс были следующими (табл. 1) [11].

Таблица 1. Критерии оценки ингибирующего роста опухолей эффекта
Table 1. Criteria for evaluating the tumor growth-inhibiting effect

Критерии противоопухолевой эффективности Criteria of antitumor efficacy	Значения эффективности Values efficiency
ТРО $< 20\%$ TGI $< 20\%$	0
ТРО $< 20-50\%$ TGI $< 20-50\%$	\pm
ТРО $< 51-80\%$ TGI $< 51-80\%$	+
ТРО $< 81-90\%$ TGI $< 81-90\%$	++
ТРО $< 91-100\%$ + $< 50\%$ ПР TGI $< 91-100\%$ + CR $< 50\%$	+++
ТРО $> 91-100\%$ + $> 50\%$ ПР TGI $> 91-100\%$ + CR $> 50\%$	++++

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

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

Оценка противоопухолевого эффекта по увеличению продолжительности жизни проводилась по окончании эксперимента и гибели всех крыс. Определялась средняя продолжительность жизни (СПЖ) в группах, и вычислялись показатели УПЖ по формуле (4):

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

где УПЖ – показатель увеличения продолжительности жизни павших крыс (в %); $СПЖ_{опыта}$ – средняя продолжительность жизни павших крыс в опытных группах (в сут); $СПЖ_{контроля}$ – средняя продолжительность жизни павших крыс в контрольной группе (в сут).

Минимально значимый критерий, демонстрирующий эффективность лечения перевивных опухолей, считался при УПЖ $> 50\%$.

Статистическая обработка полученных данных. Статистическая обработка результатов (V_{cp} , коэффициенты К и ТРО) проводилась с помощью пакетов прикладных программ Excel (версия 2010), Origin Pro (Origin Lab., версия 7.0, США) и Statistica (StatSoft, Inc., версия 10.0, США). Данные представляли как $M \pm m$ (среднее значение \pm ошибка среднего значения). Для

оценки достоверности различий использовали U критерий Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$. Общая выживаемость оценивалась с использованием непараметрического метода Каплана–Майера. Точкой 0 принята дата перевивки опухоли, событием – гибель крысы, окончанием наблюдения – гибель всех крыс в опытной группе. Сравнительный анализ данных проводился с помощью непараметрического

лог-ранк-теста. Различия считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Перевиваемость опухолевого штамма составила 100 %.

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

Таблица 2. Данные о динамике роста перевивных опухолей в эксперименте на крысах с лимфосаркомой Плисса

Table 2. Data on the growth dynamics of transplanted tumors in an experiment on rats with Pliss lymphosarcoma

Наименование группы Groups	Исследуемые критерии Research criteria					
	Время после перевивки, сут Days after tumors transplantation, days					
	Средний объем, см ³ (M ± m) V _{av} , cm ³ (M ± m)					
	Коэффициент абсолютного прироста опухолей (К), ОЕ Coefficient of absolute tumor growth (K), units					
	Коэффициент торможения роста опухолей (ТРО), % Coefficient of tumor growth inhibition (TGI), %					
	p vs интактный контроль p vs intact control					
	6	9	11	13	15	18
ИК IC	0,012 ± 0,001	1,33 ± 0,14	9,19 ± 0,56	18,07 ± 0,22	49,53 ± 2,72	65,98 ± 0,81
	–	109,83	764,83	1504,83	4126,50	5497,33
	–	–	–	–	–	–
	–	–	–	–	–	–
ФС + КЛТ PS + CRT	0,012 ± 0,001	0,20 ± 0,05	1,18 ± 0,38	3,24 ± 0,91	8,89 ± 2,31	17,11 ± 4,13
	–	15,67	97,33	269,00	739,83	1424,83
	–	84,96	87,16	82,07	82,03	74,07
	>0,05	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
ФС + ФДТ PS + PDT	0,014 ± 0,001	0,65 ± 0,16	1,69 ± 0,38	4,58 ± 0,89	12,12 ± 2,11	24,02 ± 4,01
	–	45,43	119,71	326,14	864,71	1714,71
	–	51,13	81,61	74,65	75,53	63,60
	>0,05	0,008	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000
ФС + КЛТ + ФДТ PS + CRT + PDT	0,012 ± 0,001	0,11 ± 0,02	0,36 ± 0,11	1,37 ± 0,51	2,96 ± 1,09	4,42 ± 1,65
	–	8,17	29,00	113,17	245,67	367,33
	–	91,73	96,08	92,42	94,02	93,30
	>0,05	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000	0,00000

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

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

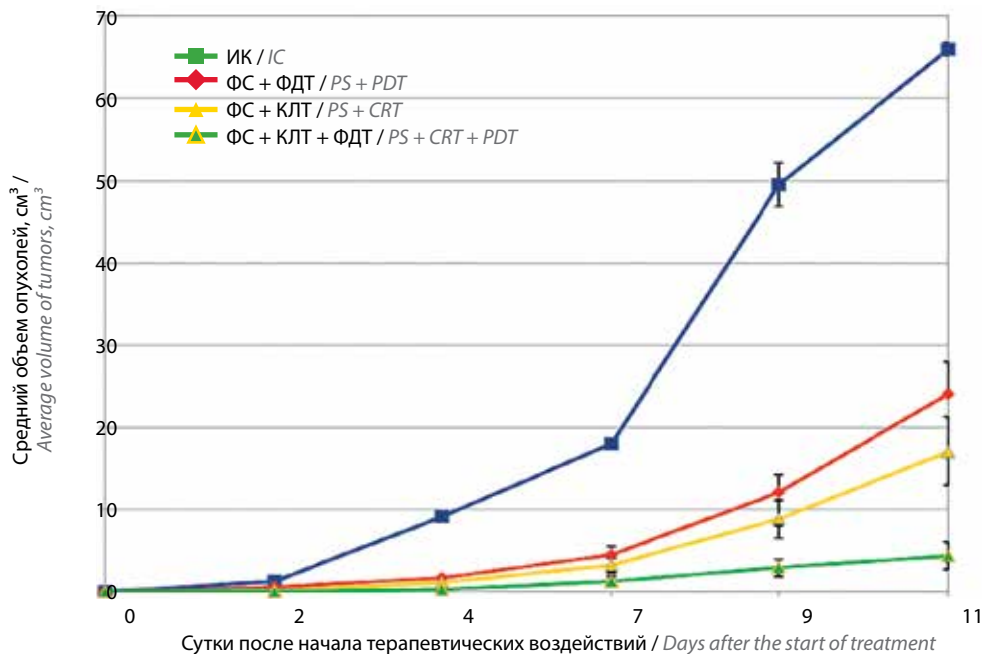


Рис. 1. Изменение среднего объема перевивных опухолей в группах исследования: ИК – интактный контроль; ФС – фотосенсибилизатор; КЛТ – контактная лучевая терапия; ФДТ – фотодинамическая терапия

Fig. 1. Change in the average volume of transplanted tumors in study groups: IC – intact control, PS – photosensitizer, CRT – contact radiotherapy, PDT – photodynamic therapy

В эксперименте оценивали противоопухолевую эффективность метода комбинированной терапии перевивных опухолей, включающего системное (внутривенное) введение ФС, представляющего собой тринатриевую соль хлорина еб, с последующим однократным воздействием лазерным излучением в экспозиционной дозе 100 Дж/см² с плотностью мощности 0,2 Вт/см² и фракционированным воздействием ионизирующим излучением в РОД 2 Гр тремя фракциями до достижения СОД 6 Гр в сравнении с каждым из компонентов метода (ФС + КЛТ, ФС + ФДТ) и ИК.

Как видно из табл. 2 и рис. 1, в течение всего срока оценки показателей, характеризующих изменение динамики роста перевивных опухолей (с 6-х по 18-е сутки после терапевтических воздействий), отмечено его статистически значимое торможение как в группе комбинированной терапии, так и в группах-компонентах предложенного метода по сравнению с группой ИК ($p < 0,05$).

На 18-е сутки эксперимента $V_{\text{ср}}$ в группе комбинированной терапии был статистически значимо меньше: в 14,93 раза по сравнению с ИК ($p = 0,00000$), в 5,43 раза по сравнению с группой ФС + ФДТ ($p = 0,0005$) и в 3,87 раза по сравнению с группой ФС + КЛТ ($p = 0,013$).

Противоопухолевая эффективность воздействий по полуколичественной шкале оценки (табл. 1) представлена в табл. 3.

В табл. 4 и на рис. 2 представлены данные о показателях выживаемости павших крыс в данной серии

экспериментов. Полученные результаты свидетельствуют о высокой противоопухолевой эффективности разработанного метода комбинированной терапии: достигнуто статистически значимое увеличение СПЖ по сравнению с ИК и каждым из компонентов метода ($p = 0,0002$ – с ФС + ФДТ и $p = 0,002$ – с ФС + КЛТ).

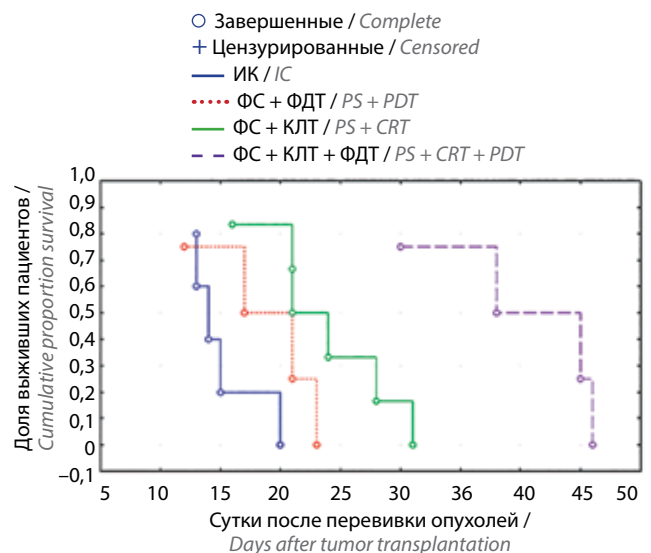


Рис. 2. Показатели выживаемости крыс в эксперименте: ИК – интактный контроль; ФС – фотосенсибилизатор; КЛТ – контактная лучевая терапия; ФДТ – фотодинамическая терапия

Fig. 2. Survival rates of rats in the experiment: IC – intact control, PS – photosensitizer, CRT – contact radiotherapy, PDT – photodynamic therapy

Таблица 3. Оценка противоопухолевой эффективности по критериям ингибирующих рост перевивных опухолей эффектов

Table 3. Evaluation of antitumor efficacy according to the criteria growth-inhibiting effects of transplanted tumors

Наименование группы Groups	Исследуемые критерии Research criteria		
	Коэффициент торможения роста опухоли, % Tumor growth inhibition coefficient, %	Частота полных регрессий, % Frequency of complete regressions, %	Эффективность Efficacy
ИК IC	—	0,0	0
ФС + ФДТ PS + PDT	63,60	16,7	+++
ФС + КЛТ PS + CRT	74,07	14,3	+++
ФС + КЛТ + ФДТ PS + CRT + PDT	93,30	42,9	+++

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

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

Таблица 4. Показатели выживаемости в эксперименте

Table 4. Survival rates in the experiment

Наименование группы Groups	Информация Information		
	Средняя продолжительность жизни, сутки Average life expectancy, days	Увеличение средней продолжительности жизни, % Increase in average life expectancy, %	p vs интактный контроль p vs intact control
ИК IC	15,80 ± 1,32	—	—
ФС + ФДТ PS + PDT	19,80 ± 1,96	25,31	0,11
ФС + КЛТ PS + CRT	24,50 ± 2,21	55,06	0,005
ФС + КЛТ + ФДТ PS + CRT + PDT	40,80 ± 3,71	158,22	0,00004

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

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

Таким образом, разработанный метод комбинированной терапии, который включает внутривенное введение ФС, а именно тринатриевой соли хлоридна еб, в дозе 2,5 мг/кг массы тела с последующими через 2,5–3,0, 24 и 48 ч после окончания инфузии ФС сеансами КЛТ при фракционированном облучении в РОД 2 Гр до достижения СОД 6 Гр и ФДТ в экспозиционной дозе 100 Дж/см² и плотности мощности лазерного излучения 0,2 Вт/см², продемонстрировал высокую противоопухолевую эффективность. На 18-е сутки после сеанса лечения животных коэффициент К составил 367,33 ОЕ; величина ТРО по сравнению с ИК – 93,30 %. На 60-е и 90-е сутки частота

ПР и излечения составила 42,9 % и 42,9 % соответственно. Показатели СПЖ и УПЖ – 40,80 ± 3,71 сут и 158,22 % соответственно. Эффективность воздействия по полуколичественной шкале оценки составила «+++».

Обсуждение

Фотосенсибилизаторы – вещества природного и синтетического происхождения, используемые для ФДТ в экспериментальной и клинической онкологии. В последние годы актуализировался интерес исследователей к использованию с целью их активации таких физических факторов как ультразвук,

магнитные поля и гипертермия [12]. Рядом авторских коллективов предложено применять в качестве радиомодификаторов ионизирующего излучения различные ФС. Данное направление научных исследований получило название «радиодинамическая терапия» (РДТ) – метод лечения, основанный на комбинированном применении ФС и ионизирующего излучения, как правило, при дистанционной ЛТ [5]. В источниках литературы, опубликованных в период с начала 2000-х гг. до 2019 г., встречаются немногочисленные публикации, посвященные изучению радиодинамической активности ФС «Протопорфирин IX» (ПпIX), «Дериват гематопорфирина» и «Порфиринер натрия» в экспериментах *in vitro/in vivo* (глиомы с6 и U-373 MG, глиосаркома 9L; плоскоклеточная карцинома пищевода человека OE-21, аденокарцинома пищевода человека OE-33; карцинома мочевого пузыря человека RT4 и аденокарцинома толстого кишечника HT-29) [13–16].

В дальнейшем J.V. Panetta и соавт. из Fox Chase Cancer Center (США) (2020) опубликовали результаты применения РДТ с ФС ПпIX у мышей с ортотопической моделью карциномы предстательной железы человека PC-3. Вызывающая образование эндогенного ФС 5-АЛК вводилась перорально в дозе 100 мг/кг за 4 ч до начала облучения подкожно перевитых опухолей, которое осуществлялось в РОД 4 Гр однократно. Авторы сообщили, что через 1 и 2 нед от момента начала эксперимента в группе РДТ (5-АЛК + ЛТ) средний объем опухолей был на 24 ± 9 % и 21 ± 8 % меньше по сравнению с группой ЛТ в монорежиме соответственно ($p < 0,05$) [4].

В другом исследовании J. Takahashi и соавт. (Health and Medical Research Institute, Япония) (2021) представили экспериментальные данные о применении РДТ с ФС ПпIX против глиобластом человека U251MG и U87MG у мышей BALB/c-nu/nu. 5-АЛК вводилась перорально в дозах 60 и 120 мг/кг за 4 ч до начала облучения подкожно перевитых опухолей, которое проводилось в РОД 2 Гр 5 раз в неделю в течение 6 нед до достижения СОД 60 Гр. Авторы пришли к выводу, что предложенная методика облучения по схеме РДТ (5-АЛК 120 мг/кг + ЛТ СОД 60 Гр) оказывает выраженное тормозящее действие на рост обеих моделей перевитых опухолей в течение всего срока наблюдения (42 и 70 сут соответственно), вызывая в опухолевой ткани развитие морфологически подтвержденных необратимых повреждений [17].

D.M. Yang и соавт. (2022) (Fox Chase Cancer Center, США) доказали наличие радиосенсибилизирующих свойств у 5-АЛК в эксперименте на линейных мышцах C57BL/6 с перевитой подкожно опухолью мелкоклеточным раком легкого KP1. Перорально вводилась 5-АЛК в дозе 100 мг/кг за 4 ч до начала облучения подкожно перевитых опухолей, которое

осуществлялось однократно в РОД 4 Гр. Авторы пришли к выводу, что через 2 нед после начала эксперимента в группе РДТ (5-АЛК + ЛТ) зарегистрировано торможение роста перевитых опухолей на 52,1; 48,1 и 57,9 % по сравнению с группами 5-АЛК ($p < 0,001$), ЛТ в монорежиме ($p < 0,001$) и интактным контролем ($p < 0,001$) соответственно [18].

Y. Matsuyama и соавт. (Mie University Graduate School of Medicine, Япония) (2022) в экспериментах *in vivo* изучили возможность применения акридина оранжевого (АО) в качестве радиомодификатора. В качестве объектов исследований авторы использовали линейных мышей C3H/HeSlc и BALB/cSlc-nu/nu с перевитыми опухолями: остеосаркомой мышью LM8, раком предстательной железы человека PC-3 и раком молочной железы человека MDA-MB-231. АО вводился подкожно по периметру опухолей в дозе 1 мкг/мл. Облучение производилось однократно в РОД 5 Гр. Авторы сообщили, что РДТ (АО + ЛТ) продемонстрировала выраженный цитостатический эффект в отношении всех видов опухолей. Так, к концу 2-й недели эксперимента 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 ($p < 0,05$) и для PC-3 – 530, 200, 45 и 14 мм³ ($p < 0,05$) соответственно [5].

И, наконец, С. Dupin и соавт. (Bordeaux Institute of oncology, Франция) (2022) представили опыт применения метода РДТ в эксперименте на иммунодефицитных мышцах RAG $\gamma^2C^{-/-}$ с ортотопической моделью глиобластомы человека P3. В качестве фотосенсибилизирующего агента использовали 5-АЛК, которую вводили интраперитонеально в дозе 100 мг/кг. 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 ($p = 0,24$; HR = 1,57) [19].

Авторы сообщают о статистически значимом сокращении числа жизнеспособных опухолевых клеток и торможении роста перевитых опухолей в группах комбинированной терапии по сравнению с ЛТ в монорежиме. Проанализированные данные свидетельствуют о значительных перспективах данного направления в экспериментальной онкологии.

Полученные в экспериментах результаты позволяют сделать вывод о наличии у ряда ФС

радиомодифицирующих свойств, что создает предпосылки для оптимизации и дальнейшего совершенствования комплексной терапии пациентов со злокачественными новообразованиями различных локализаций. Учеными из Германии и Израиля начата апробация метода в клинике в рамках пилотных проектов [20, 21]. Полученные данные показывают хорошую переносимость РДТ (ФС + ЛТ) и отсутствие серьезных нежелательных реакций у пациентов с глиомами, раком мочевого пузыря, шейки матки, меланомой, остеогенной саркомой, лимфосаркомой и др., а также удовлетворительную противоопухолевую эффективность, которая подтверждена увеличением частоты объективных ответов и редукции объема опухолей, что позволило перевести их в резектабельное состояние.

Тем не менее из-за немногочисленности пролеченных пациентов, отсутствия результатов рандомизированных исследований и необходимости их проведения с целью оптимизации режимов воздействия ионизирующим излучением и определения эффективности комбинированной терапии по сравнению с монотерапией ЛТ пока нельзя сделать окончательные выводы о перспективах данного направления в клинической онкологии. В связи с этим инициированы несколько клинических испытаний на больших выборках пациентов с целью оценки безопасности и переносимости РДТ. Так, 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 злокачественных новообразований (солидные опухоли головы и шеи, грудной и брюшной полостей, 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, а 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 предварительных данных о противоопухолевой эффективности метода [7].

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 проф. W. Stummer

(University Hospital Münster, Germany) начато в октябре 2022 г. В исследование планируется включить 34 пациента с рецидивной формой глиобластомы (первый рецидив после комбинированного или комплексного лечения). В качестве ФС используется 5-АЛК (Gliolan®). Облучение будет проводиться фракционированно, а целью исследования будет определение максимально переносимых доз ФС и ЛТ, а также оптимального числа сеансов РДТ. В качестве критериев противоопухолевой эффективности будут изучены показатели выживаемости пациентов (общая 6-месячная выживаемость, 6-месячная выживаемость без прогрессирования и др.) [8].

Как свидетельствуют представленные выше данные, ФС наряду с традиционными фотосенсибилизирующими свойствами обладают и свойствами радиомодификаторов. Для повышения противоопухолевой эффективности ФДТ целесообразно комбинированное и сочетанное применение метода с традиционными подходами в лечении злокачественных новообразований, в частности с ЛТ [10]. Основой данной комбинации является 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 серьезных нежелательных реакций, имеющих место при применении высоких доз указанных физических факторов.

Заключение

Пилотные данные, полученные на основании анализа непосредственных и отдаленных результатов экспериментального исследования на перевивных опухолях у крыс, свидетельствуют о высокой противоопухолевой эффективности комбинированного лечения, включающего применение ФС, представляющего собой тринатриевую соль хлорина е6, с последующим проведением сеансов РДТ во фракционированном режиме облучения и ФДТ при однократном режиме облучения по сравнению с РДТ и ФДТ в монорежимах. Публикации, посвященные изучению эффективности комбинированного применения данного ФС хлоринового ряда и указанных методов терапии, демонстрирующие положительные результаты, в доступных источниках литературы носят единичный характер, что позволяет сделать вывод о необходимости и перспективности развития более глубоких исследований в данном направлении [22].

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- 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;9:e686303. DOI: 10.3389/fchem.2021.686303
- Correia J.H., Rodrigues J.A., Pimenta S. et al. Photodynamic therapy review: principles, photosensitizers, applications, and future directions. *Pharmaceutics* 2021;13:e1332. DOI: 10.3390/pharmaceutics13091332
- Rodrigues J.A., Correia J.H. Enhanced photodynamic therapy: a review of combined energy sources. *Cells* 2022;11(24):3995. DOI: 10.3390/cells11243995
- Panetta J.V., Cvetkovic D., Chen X. et al. Radiodynamic therapy using 15-MV radiation combined with 5-aminolevulinic acid and carbamide peroxide for prostate cancer *in vivo*. *Phys Med Biol* 2020;65(16):1–14. DOI: 10.1088/1361-6560/ab9776
- Matsuyama Y., Nakamura T., Yoshida K. et al. Radiodynamic therapy with acridine orange local administration as a new treatment option for primary and secondary bone tumours. *Bone Joint Res* 2022;11(10):715–22. DOI: 10.1302/2046-3758.1110.BJR-2022-0105.R2
- Di Pompo G., Kusuzaki K., Ponzetti M. et al. Radiodynamic therapy with acridine orange is an effective treatment for bone metastases. *Biomedicines* 2022;10:1904. DOI: 10.3390/biomedicines10081904
- ClinicalTrials.gov Identifier: NCT04381806
- ClinicalTrials.gov Identifier: NCT05590689
- Tzerkovsky D.A., Mazurenko A.N., Kozlovskii D.I., Borichevsky F.F. Radiodynamic therapy with chlorine-based photosensitizer on Pliss lymphosarcoma solid tumor: *in vivo* experiment. *J Analyt Oncol* 2022;11:33–8. DOI: 10.30683/1927-7229.2022.11.05
- He L., Yu X., Li W. Recent progress and trends in X-ray-induced photodynamic therapy with low radiation doses. *ACS Nano* 2022;16(12):19691–721. DOI: 10.1021/acsnano.2c07286
- Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Под ред. чл.-корр. РАМН проф. Р.У. Хабриева. М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. С. 647–649. 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. Khabriev. Moscow: OAO “Izdatelstvo Meditsina”, 2005. Pp. 647–649.
- Yang M., Yang T., Mao C. Enhancement of photodynamic cancer therapy by physical and chemical factors. *Angew Chem Int Ed Engl* 2019;58(40):14066–80. DOI: 10.1002/anie.201814098
- Schaffer M., Ertl-Wagner B., Schaffer P.M. et al. Porphyrins as radiosensitizing agents for solid neoplasms. *Curr Pharm Des* 2003;9(25):2024–35. DOI: 10.2174/1381612033454153
- Rutkovskiene L., Plesniene L., Sendiulienė D. et al. Sensitization of rat C6 glioma cells to ionizing radiation by porphyrins. *Acta Medica Lituanica* 2011;18(2):56–62. DOI: 10.6001/actamedica.v18i2.1816
- Yamamoto J., Ogura S.I., Shimajiri S. et al. 5-Aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX with multi-dose ionizing irradiation enhances host antitumor response and strongly inhibits tumor growth in experimental glioma *in vivo*. *Mol Med Rep* 2015;11(3):1813–9. DOI: 10.3892/mmr.2014.2991
- Yamada K., Murayama Y., Kamada Y. et al. Radiosensitizing effect of 5-aminolevulinic acid in colorectal cancer *in vitro* and *in vivo*. *Oncol Lett* 2019;17:5132–8. DOI: 10.3892/ol.2019.10198
- Takahashi J., Nagasawa S., Doi M., Takahashi M. et al. *In vivo* study of the efficacy and safety of 5-aminolevulinic radiodynamic therapy for glioblastoma fractionated radiotherapy. *Int J Mol Sci* 2021;22:1–15. DOI:10.3390/ijms22189762
- 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;8(6):1–15. DOI: 10.1088/2057-1976/ac9b5c
- Dupin C., Sutter J., Amintas S. et al. An orthotopic model of glioblastoma is resistant to radiodynamic therapy with 5-aminolevulinic acid. *Cancers (Basel)* 2022;14(17):4244. DOI: 10.3390/cancers14174244
- Schaffer M., Ertl-Wagner B., Schaffer P.M. et al. Feasibility of photofrin II as a radiosensitizing agent in solid tumors – preliminary results. *Onkologie* 2006;29:514–9. DOI: 10.1159/000095979
- Schaffer P., Batash R., Ertl-Wagner B. et al. Treatment of cervix carcinoma FIGO IIIb with Photofrin II as a radiosensitizer: a case report. *Photochem Photobiol Sci* 2019;18:1275–9. DOI: 10.1039/c8pp00576a
- Jiang F., Lee C., Zhang W. et al. Radiodynamic therapy with CsI(na)@MgO nanoparticles and 5-aminolevulinic acid. *J Nanobiotechnology* 2022;20(1):330. DOI: 10.1186/s12951-022-01537-z

Вклад авторов

D.A. Tzerkovsky: разработка дизайна исследования, обзор публикаций по теме статьи, получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание и редактирование текста рукописи;

D.I. Kozlovskiy: получение данных для анализа, анализ полученных данных;

A.N. Mazurenko: обзор публикаций по теме статьи, получение данных для анализа, анализ полученных данных;

N.D. Adamenko: получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи;

F.F. Borichevsky: обзор публикаций по теме статьи, получение данных для анализа, анализ полученных данных.

Author's contributions:

D.A. Tzerkovsky: research design development, review of publications on the topic of the article, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, article writing and editing;

D.I. Kozlovsky: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;

A.N. Mazurenko: review of publications on the topic of the article, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;

N.D. Adamenko: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, article writing;

F.F. Borichevsky: review of publications on the topic of the article, obtaining data for analysis, analysis of the obtained data.

ORCID авторов /ORCID of authors

Д.А. Церковский / D.A. Tzerkovsky: <https://orcid.org/0000-0001-7444-7997>

Д.И. Козловский / D.I. Kozlovsky: <https://orcid.org/0000-0001-8165-7597>

А.Н. Мазуренко / A.N. Mazurenko: <https://orcid.org/0000-0001-9541-3374>

Н.Д. Адаменко / N.D. Adamenko: <https://orcid.org/0000-0002-0851-7317>

Ф.Ф. Боричевский / F.F. Borichevsky: <https://orcid.org/0000-0003-1028-4601>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Национальной академии наук Беларуси (грант № 2021-61-284, 2021–2022 гг.).

Financing. This work was supported financially by the National Academy of Sciences of Belarus (grant № 2021-61-284, 2021–2022).

Соблюдение правил биоэтики. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей. Выполнение исследования одобрено Комитетом по этике РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова (выписка из протокола от 25.02.2022 г. № 180).

Compliance with principles of bioethics. The study was performed in accordance with ethical principles adopted by the European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. The study was approved by the Ethics Committee of the N.N. Alexandrov National Cancer Center of Belarus (protocol dated 25.02.2022 № 180).

Статья поступила: 07.07.2023. Принята в печать: 18.08.2023

Article received: 07.07.2023. Accepted for publication: 18.08.2023