УДК 616-073.584, 57.086.8, 616-006

# ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ОКСИГЕНАЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ НА ФОНЕ ХИМИОТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ МЕТОДОМ ОПТИЧЕСКОЙ ДИФФУЗИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

© 2012 г.

Т.И. Пряникова<sup>1,2</sup>, А.Г. Орлова<sup>2</sup>, Г.Ю. Голубятников<sup>2</sup>, Л.Б. Снопова<sup>3</sup>, И.П. Иванова<sup>3</sup>, А.В. Масленникова<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>Нижегородский госуниверситет им. Н.И. Лобачевского <sup>2</sup>Институт прикладной физики РАН, Н. Новгород <sup>3</sup>Нижегородская государственная медицинская академия

tipryanikova@mail.ru

Поступила в редакцию 24.04.2012

Продемонстрированы возможности метода оптической диффузионной спектроскопии для неинвазивного мониторинга параметров, характеризующих кислородный статус экспериментальной опухоли после химиотерапии. Выявлена стабилизация уровня насыщения крови кислородом под воздействием цитостатического агента (циклофосфана) за счет стабилизации количества восстановленного гемоглобина, характеризующего уровень потребления кислорода тканью опухоли.

Ключевые слова: кислородный статус, гипоксия, экспериментальная опухоль, *in vivo*, оптическая диффузионная спектроскопия, лимфосаркома Плисса, химиотерапия, циклофосфан.

# Введение

Использование препаратов с цитотоксическим действием - химиотерапия - является одним из основных методов лечения злокачественных новообразований. Для оценки ее эффективности в эксперименте применяются такие методы, как определение показателей выживаемости, мониторинг изменений объема опухоли в процессе лечения (процент торможения опухолевого роста), исследование опухолевого патоморфоза [1, 2]. Однако указанные подходы не могут дать информацию о важнейших биологических особенностях опухоли in vivo. Одним из параметров, имеющих существенное прогностическое и предсказательное значение в отношении злокачественной опухоли, является кислородный статус и его динамика в ответ на цитотоксическое воздействие [3]. Так, в работе О. Thews с сотрудниками при искусственной модификации уровня оксигенации экспериментальной опухоли выявлено повышение эффективности цитостатического воздействия [4].

«Золотым стандартом» определения кислородного статуса тканей является прямое полярографическое измерение парциального давления кислорода ( $pO_2$ ). Метод основан на измерении величины электрического тока, возникающего в тканях вокруг электрода [5]. Сложная методика измерения и инвазивность являются существенными недостатками данного метода и

затрудняют его использование в целях мониторинга гипоксии [6]. Кроме того, данный метод не позволяет получить картину общего распределения областей гипоксии, некрозов и оксигенированных участков. Неинвазивное исследование уровня оксигенации опухолевой ткани in vivo возможно лишь с помощью специальных дорогостоящих методов визуализации тканей, таких как магнитно-резонансная томография (MPT) и позитронная эмиссионная томография (ПЭТ) [7]. Для диагностики гипоксии с применением ПЭТ используются меченые фтором-18 производные нитроимидазолов, которые селективно связываются с участками тканей с пониженным  $pO_2$  [8]. Основным преимуществом метода МРТ является отсутствие необходимости применения радиофармпрепаратов, а также высокая чувствительность к изменениям степени оксигенации крови, т.е. высокое временное и пространственное разрешение. Основным недостатком можно считать достаточно низкую специфичность метода, обусловленную большим количеством патологических состояний, вызывающих изменение концентрации дезоксигемоглобина [6, 9, 10].

Альтернативой ПЭТ и МРТ является оптическая диффузионная спектроскопия (ОДС) [11]. Метод позволяет получать двумерные изображения распределения поглощающих и рассеивающих включений в исследуемой зоне и восстанавливать картину распределения концентраций основных тканевых хромофоров – оксигемоглобина (HbO<sub>2</sub>) и дезоксигемоглобина (HHb). По соотношению данных соединений рассчитывается такой показатель, как уровень насыщения крови кислородом, который косвенным образом отражает уровень оксигенации тканей [11–13]. Ограничениями метода являются относительно невысокое пространственное разрешение (не более нескольких мм) и относительно небольшая глубина сканирования (до 10 см), что не препятствует использованию ОДС в предклинических исследованиях.

Проведенные ранее эксперименты на моделях опухолей крыс показали, что метод ОДС корректно отражает различия в уровне оксигенации новообразований в зависимости от темпов роста опухолей и их гистологического строения [14]. Цель настоящего исследования – изучение возможностей ОДС в качестве метода мониторинга кислородного статуса экспериментальной опухоли под воздействием химиотерапии.

### Экспериментальная часть

Эксперименты проводились на 12 белых беспородных крысах-самцах массой 200–230 г в соответствии с требованиями нормативных правовых актов, регламентирующих выполнение исследований по безопасности и эффективности фармакологических веществ в РФ (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации «Об утверждении Правил лабораторной практики» (GLP) (23.08.2010 г., № 708-н) и международными правилами правовых и этических норм использования животных.

В качестве экспериментальной модели был выбран штамм лимфосаркомы Плисса (ЛСП). Ее строение характеризуется наличием большого количества компактно расположенных мелких и крупных неправильной формы клеточных элементов с ядрами различных форм и размеров. Данная модель отличается высокой митотической активностью клеток и хорошей васкуляризацией опухолевой ткани. Встречаются мелкие и крупные фокусы некрозов [15]. Морфологические и физиологические особенности ЛСП обусловлены низким уровнем оксигенации и наличием в ткани опухоли зон гипоксии [14]. Штамм опухоли был приобретен в РОНЦ им. Блохина, Москва. Клетки ЛСП трансплантировали подкожно в область правой нижней трети передней брюшной стенки.

В работе использовалась установка для оптической диффузионной спектроскопии, созданная в Институте прикладной физики РАН, Нижний Новгород [16]. В качестве источников излучения в установке использовались полупроводниковые лазеры с волоконным выходом на трех длинах волн: 684 нм, соответствующей максимуму поглощения восстановленного гемоглобина; 850 нм, соответствующей максимуму поглощения оксигемоглобина; 794 нм, на которой коэффициенты поглощения окисленного и восстановленного гемоглобина совпадают. Сканирование осуществлялось при синхронном пошаговом перемещении источника и детектора, расположенных в сагиттальной оси с противоположных сторон от исследуемого объекта. Время получения одного изображения составляло 15 мин.

Путем численной обработки полученных изображений получали карту распределения коэффициентов поглощения и рассеяния и восстанавливали двумерное распределение концентраций окисленного, восстановленного и общего гемоглобина (tHb) как суммы концентраций окисленной и восстановленной его форм. Уровень насыщения крови кислородом определяли как отношение концентрации окисленного гемоглобина к общему: StO<sub>2</sub>= [HbO<sub>2</sub>]/[HbO<sub>2</sub>+ HHb] [11].

Перед началом эксперимента животных наркотизировали и закрепляли на опорной пластине, используемой для фиксации при проведении сканирования. В зону сканирования включалась зона опухоли с окружающими нормальными тканями. С целью снижения ошибок измерений, вызванных сложной формой поверхности животного, во время сканирования экспериментальные животные помещались в кювету с биоподобной жидкостью (20%-ной суспензией липофундина в воде с добавлением тупи) [17]. Иммерсионная суспензия имеет коэффициент рассяяния в диапазоне 10–20 обратных сантиметров, а коэффициент поглощения в диапазоне 0.04–0.06 обратных сантиметров на длине волны 790 нм.

В качестве модельного химиотерапевтического агента был использован препарат циклофосфан (циклофосфамид, эндоксан), который относится к группе алкилирующих средств и обладает широким спектром противоопухолевого действия [18]. Препарат вводили внутрибрюшинно однократно из расчета 50 мг/кг на четвертые сутки после перевивки опухоли, когда ее максимальный продольный размер достигал 13-16 мм. ОДС-исследование осуществляли на 4-е сутки после перевивки (до введения циклофосфана), а затем на шестые, восьмые, десятые и тринадцатые сутки после перевивки. В качестве контроля использовали нелеченых животных, которым ОДС осуществлялось в те же сроки после перевивки. Перед каждым сканированием штангенциркулем измеряли размеры опухоли в трех взаимно перпендикулярных направлениях, и их перемножением определяли объем. Коэффициент торможения роста опухоли (ТРО) определяли как ТРО =  $100\%(V_{\kappa} - V_{o})/V_{\kappa})$ , где  $V_{\kappa}$  – объем опухоли в контрольной группе,  $V_{o}$  – объем опухоли в опытной группе [1].

Стандартное гистологическое исследование ткани опухоли (фиксация в 10%-ном нейтральном формалине, заливка в парафин, окраска срезов гематоксилином и эозином) выполнялось у одного животного в контрольной и опытной группе на четвертые и десятые сутки после трансплантации клеток опухоли.

При анализе данных ОДС использовали отношение концентраций окси-, дезоксигемоглобина, общего гемоглобина и уровня оксигенации в зоне опухоли к концентрациям этих компонентов в окружающих нормальных тканях. Для обработки результатов использовали программу ImageJ, которая позволяет выделить зону интереса внутри графического изображения и проводить последующие вычисления. Для статистического анализа данных использовали программы *«Microsoft* Excel 2002» «STATISTICA 6.0». Рассчитывали среднее значение каждого параметра, стандартное отклонение и уровень статистической значимости с использованием *t*-критерия Стьюдента.

### Результаты и их обсуждение

В процессе естественного роста ЛСП (контрольная группа) наблюдалось увеличение объема опухоли в соответствии со стадиями опухолевого роста, представленными В.А. Горьковым и Л.С. Васильевой [19]. Согласно данным этих авторов, ЛСП в процессе развития проходит следующие фазы: начальная нестационарная фаза начинается латентным периодом до 3 суток и продолжается до 9 суток; затем наступает линейная (логарифмическая) фаза роста опухоли (рис. 1). Объем опухоли возрос с 1.4±0.3 см<sup>3</sup> (4-е сутки после перевивки) до 99.0±12.7 см<sup>3</sup> (13-е сутки после перевивки). Полученные нами данные подтвердили, что быстрое увеличение объема опухоли наступает на линейной (логарифмической) стадии. В опытной группе соответствующие показатели составили 1.5±0.8 см<sup>3</sup> и 72.3±12.3 см<sup>3</sup>. Максимальный коэффициент торможения опухолевого роста наблюдался на 10 сутки и составил 77%, к 13 суткам ТРО вновь снижался до 26%.

Параллельно с увеличением объема опухоли в ходе естественного роста методом ОДС было выявлено постепенное снижение оксигенации опухолевой ткани. Уменьшение уровня насыщения кислородом являлось статистически значимым по сравнению с исходным уровнем, начиная с шестых суток после перевивки (рис. 2г). Это происходило, прежде всего, за счет повышения концентрации восстановленного гемоглобина, который отражает уровень потребления тканями кислорода [11] (рис. 26, в, пунктирные линии). Его возрастание в такой агрессивно растущей опухоли как ЛСП, с высоким соотношением паренхима/строма, может объясняться несоответствием между недостаточным уровнем доставки кислорода и повышенной потребностью в нем активно пролиферирующей ткани опухоли. Согласно данным [20, 21], именно это несоответствие является одним из источников хронической гипоксии опухоли. Кроме того, по мере роста опухоли ее клетки все более отдаляются от сосудов, и утилизация кислорода в полном объеме становится невозможной. Соответствующим образом реализуется механизм нарушения диффузии кислорода в тканях [22]. Другим механизмом, ответственным за возрастание уровня восстановленного гемоглобина, может быть уменьшение его оттока из опухолевой ткани вследствие аномалий ее



Рис. 1. Изменение объема опухоли лимфосаркомы Плисса в процессе естественного роста и на фоне химиотерапии

сосудистого русла [23]. Одновременно у животных в контрольной серии наблюдалось существенное снижение концентрации окисленного гемоглобина в опухолевой ткани, что, возможно, отражает нарушение доставки кислорода через аномально сформированное сосудистое русло опухоли [24]. Отсутствие статистически значимых изменений уровня общего гемоглобина на протяжении всего времени наблюдения в ходе естественного роста ЛСП является показателем стабильности ее кровенаполнения (рис. 2в, пунктирная линия).

После химиотерапевтического воздействия отмечались существенные различия динамики показателей кислородного статуса опухоли по сравнению с животными контрольной серии. Прежде всего, в течение всего времени наблюдения практически не изменялось содер-жание восстановленного гемоглобина по срав-нению с исходным значением (рис. 2б, сплошная линия). Это свидетельствовало о неизменном уровне потребления кислорода опухолевой тканью. При сравнении данного показателя с контрольной группой статисти-чески значимые различия были выявлены и сохранялись в течение всего срока наблюдения, начиная с шестых суток после перевивки. Кроме того, отсутствовали значимые изменения содержания окисленного гемоглобина как по сравнению с исходным уровнем, так и с контрольной группой. Последнее может свидетельствовать о сохранении достаточного уровня доставки кислорода с кровью в процессе лечения (рис. 2a, сплошная линия). Уровень оксигенации опухоли оставался неизменным и достоверно более высоким относительно контрольной группы. Кровенаполнение опухолевой ткани не изменялось ни в процессе естественного роста, ни при воздействии цитостатического препарата.

Полученные нами результаты в основном соответствуют данным литературы, в которой описывается повышение уровня оксигенации опухолевой ткани в результате воздействия химиотерапевтических препаратов (циклофосфана и доксорубицина) [25]. Сходные результаты были получены в работе Т. Volk с сотрудниками на модели опухоли AH13r [26].

Vishwanath с коллегами [27] с помощью оптического метода наблюдали повышение концентрации окисленного гемоглобина, тенденцию к снижению концентрации восстановленного гемоглобина и увеличение среднего значения StO<sub>2</sub> опухоли при воздействии доксорубицина. Содержание общего гемоглобина оставалось неизмененным как в опытной, так и в



Рис. 2. Динамика tHb, HHb, HbO<sub>2</sub> и StO<sub>2</sub> в опухоли ЛСП в процессе естественного роста и при действии химиотерапии.

\* различия статистически значимы между сравниваемыми группами (*p* < 0.05);

\*\* различия статистически значимы по сравнению с исходным уровнем (*p* < 0.05)



Рис. 3. Пример ОДС-изображений лимфосаркомы Плисса на 4-е и 10-е сутки после перевивки опухоли в процессе естественного роста и после введения циклофосфана. Пунктиром обозначена зона опухоли. Размер ОДСизображений 80×60 мм. Гистологические образцы на 4-е и 10-е сутки после перевивки опухоли в процессе естественного роста и после введения циклофосфана

контрольной группах, что соответствует полученным нами данным.

С другой стороны, рядом авторов показано, что циклофосфан вызывает снижение уровня насыщения тканей кислородом [28, 29]. Н. Рорtani с сотрудниками [29] выявили, что циклофосфан вызывает существенное снижение *p*O<sub>2</sub> экспериментальной опухоли фибросаркомы RIF-1, сопровождаемое значительным снижением скорости гликолиза и повышением содержания глутамата.

На некоторых моделях опухолей было продемонстрировано, что основным механизмом улучшения кровоснабжения опухоли при воздействии циклофосфана является ускоренное формирование микроциркуляторного русла [28]. При этом авторы парадоксальным образом отмечали снижение уровня оксигенации опухоли при ускорении роста сосудов. Напротив, в работе Х.Ү. Тian-min с сотрудниками [30], выполненной с использованием модели рака яичников SKOV-3, использование циклофосфана приводило к снижению числа кровеносных сосудов и экспрессии VEGF в ткани опухоли.

Обсуждая механизмы изменения оксигенации опухоли в нашем исследовании, необходимо принять во внимание изменения микроструктуры ЛСП после цитостатического воздействия.

На рис. 3 приведены примеры ОДСизображений лимфосаркомы Плисса на 4-е и 10-е сутки после перевивки опухоли. Исходное ОДС-изображение ЛСП представляет собой участок со сниженным по сравнению с окружающими тканями содержанием окисленного гемоглобина и сниженной сатурацией. Концентрация восстановленного гемоглобина незначительно повышена. Гистологическое исследование опухоли в этот момент времени демонстрирует большое количество мелких и крупных неправильной формы клеточных элементов лимфоидного типа, которые плотно располагаются среди пучков мышечных волокон. Кровеносное русло опухоли представлено очень мелкими многочисленными тонкостенными сосудами (рис. 3а).

Через 10 суток после перевивки при отсутствии лечебных воздействий наблюдается увеличение размеров зоны опухоли, возрастание концентрации восстановленного гемоглобина параллельно со снижением уровня насыщения крови кислородом. Гистологическое исследование в эти сроки показывает обычное строение лимфосаркомы Плисса (большое количество клеток, многочисленные тонкостенные сосуды) (рис. 36).

На шестые сутки после введения циклофосфана ОДС-изображения ЛСП практически не изменяются по сравнению с исходными. Практически не повышается концентрация восстановленного гемоглобина, окисленный гемоглобин и сатурация сохраняются на прежнем уровне. Гистологическая же структура опухоли в эти сроки претерпевает существенные изменения. Образцы ЛСП после химиотерапии характеризуются редко расположенными опухолевыми клетками, среди которых наблюдается воспалительный инфильтрат. В этой области наблюдается формирование молодой соединительной ткани. Опухолевые клетки находятся в состоянии патологических изменений разной степени выраженности вплоть до некротических, что позволяет предположить существенное снижение потребления кислорода тканью новообразования. Таким образом, можно предположить, что одним из наиболее существенных механизмов стабилизации кислородного статуса опухоли после проведения химиотерапии является значительное уменьшение потребности опухоли в кислороде вследствие снижения ее пролиферативной активности, что подтверждает корректность результатов, полученных методом оптической диффузионной спектроскопии.

# Заключение

Методом оптической диффузионной спектроскопии было показано, что при воздействии циклофосфана уровень оксигенации ЛСП стабилизируется за счет снижения потребности опухоли в кислороде, что подтверждается как данными ОДС (стабилизация уровня восстановленного гемоглобина), так и данными гистологического исследования (дистрофические изменения опухолевых клеток и снижение пролиферативной активности).

Исследование подтвердило, что метод позволяет не только оценить уровень оксигенации биологических тканей, но и судить о механизмах изменений.

Представленный метод может быть использован для определения кислородного статуса экспериментальных моделей опухолей животных при мониторинге эффективности лечебных воздействий: химиотерапии, лучевой терапии, фотодинамической терапии. Кроме того, ОДС может быть использован при разработке и тестировании новых агентов, оказывающих влияние на кислородный статус тканей.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине», РФФИ (проекты №№ 10-02-01142, 11-04-97046) и Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 11.G 34. 31.0017).

#### Список литературы

1. Трещалина Е.М., Жукова О.С., Герасимова Г.К. и др. Методические указания по изучению противоопухолевой активности фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. Изд. 2. М: Медицина, 2005. С. 637– 651. 2. Галахин К.А., Курик Е.Г. Лечебный патоморфоз злокачественных опухолей пищеварительного тракта. Киев: Книга плюс, 2000. 176 с.

3. Duvvuri U., Poptani H., Feldman M. et al. Quantitative T1rho magnetic resonance imaging of RIF-1 tumors *in vivo*: detection of early response to cyclophosphamide therapy // Cancer Research. 2001. V. 61. P. 7747–7753.

4. Thews O., Kelleher D.K., Vaupel P. Erythropoietin Restores the Anemia-induced Reduction in Cyclophosphamide Cytotoxicity in Rat Tumors // Cancer Research. 2001. V. 61. P. 1358–1361.

5. Гейровский Я., Кута Я. Основы полярографии: пер. с чешского / Под ред. С.Г. Майрановского. М.: Мир, 1965. С. 559.

6. Davda S., Bezabeh T. Advances in methods for assessing tumor hypoxia *in vivo*: Implications for treatment planning // Cancer Metast. Rev. 2006. V. 25. № 3. P. 469–480.

7. Serganova I., Humm J., Ling C., Blasberg R. Tumor Hypoxia Imaging // Clinical Cancer Research. 2006. № 12 (18). P. 5260–5264.

8. Lee S.T., Wong P., Muralidharan V. et al. Noninvasive evaluation of hypoxia using 18F-FMISO PET in liver metastasis from colorectal carcinoma //J. Nucl. Med. 2008. № 49. Suppl. 1. P. 318.

9. Li S.P., Padhani A.R., Taylor N.J. et al. Imaging tumor hypoxia with BOLD MRI in primary breast cancer // J. Clin. Oncol. 2010. V. 28. № 15 (Suppl. 20). abstr. e13526.

10. Tripathy D., Jiang L., Rao N. et al. Blood oxygen level dependent (BOLD) contrast MRI and breast cancer chemotherapy response // J. Clin. Oncol. ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition). 2006. V. 24. № 18S. P. 10514.

11. Tromberg B.J., Cerussi A., Shah N. et al. Imaging in breast cancer: Diffuse optics in breast cancer: detecting tumors in pre-menopausal women and monitoring neoadjuvant chemotherapy // Breast Cancer Research. 2005. V. 7. P. 279–285.

12. Torricelli A., Spinelli L., Pifferi A. et al. Use of a nonlinear perturbation approach for *in vivo* breast lesion characterization by multiwavelength time-resolved optical mammography // Opt. Express. 2003. V. 11. P. 853–867.

13. Pogue B.W., Poplack S.P., McBride T.O. et al. Quantitative Hemoglobin Tomography with Diffuse Near-Infrared Spectroscopy: Pilot Results in the Breast // Radiology. 2001. V. 218. P. 261–266.

14. Maslennikova A.V., Orlova A.G., Golubiatnikov G.Yu. et al. Comparative study of tumor hypoxia by diffuse optical spectroscopy and immunohistochemistry in two tumor models // J. Biophoton. 2010. V. 3. № 12. P. 743–751.

15. Плисс Б.Б. Онкологическая характеристика нового штамма ЛФС крыс // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1961. Т. 2. С. 95–99.

16. Orlova A.G., Turchin I.V., Plehanov V.I. et al., Frequency-domain diffuse optical tomography with single source-detector pair for breast cancer detection // Laser Physics Letters. 2008. V. 5. № 4. P. 321–327.

17. Flock S.T., Jacques S.L., Wilson B.C. et al. Optical Properties of Intralipid: A phantom medium for light propagation studies // Laser Surg Med. 1992. V. 12. P. 510–519.

18. Харкевич Д.А. Фармакология. М: Медицина, 1981. 416 с.

19. Горьков В.А., Васильева Л.С. Кинетический анализ роста лимфосаркомы Плисса // Вопросы он-кологии. 1973. Т. 19. № 7. С. 91–93.

20. Honess D.J., Kitamoto Y., Rampling M.R. Nicotinamide and pentoxifylline increase human leucocyte filterability: a possible mechanism for reduction of acute hypoxia // Brit. J. Cancer. 1996. V. 74. P. S236–S240.

21. Zywietz F., Bohm L., Sagowski C., Kehrl W. Pentoxifylline Enhances Tumor Oxygenation and Radiosensitivity in Rat Rhabdomyosarcomas during Continuous Hyperfractionated Irradiation // Strahlenther On-kol. 2004. V. 180. P. 306–314.

22. Vaupel P. Hypoxia and aggressive tumor phenotype: implications for therapy and prognosis // Oncologist. 2008. V. 13. № suppl. 3. P. 21–26.

23. Fenton B.M., Lord E.M., Paoni S.F. Intravascular HbO<sub>2</sub> saturations, perfusion and hypoxia in spontaneous and transplanted tumor models // Int. J. Cancer. 2001. № 93. P. 693–698.

24. Vaupel P., Kallinowski F., Okunieff P. Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review // Cancer Res. 1989. V. 49. P. 6449–6465. 25. Busse M., Vaupel P. The role of tumor volume in 'reoxygenation' upon cyclophosphamide treatment // Acta oncologica. 1995. V. 34. № 3. P. 405–408.

26. Volk T., Roszinski S., Jahde E. et al. Effect of glucose-mediated pH reduction and cyclophosphamide on oxygenation of transplanted rat tumors // Int-J-Radiat-Oncol-Biol-Phys. 1993. V. 25. № 3. P. 465–471.

27. Vishwanath K., Hong Y., Barry W.T. et al. Using Optical Spectroscopy to Longitudinally Monitor Physiological Changes within Solid Tumors // Neoplasia (New York). 2009. V. 11. № 9. P. 889–900.

28. Kakeji Y., Maehara Y., Ikebe M., Teicher B.A. Dynamics of tumor oxygenation, CD31 staining and transforming growth factor- $\beta$  levels after treatment with radiation or cyclophosphamide in the rat 13762 mammary carcinoma // International journal of radiation oncology, biology, physics. 1997. V. 37. No 5. P. 1115–1123.

29. Poptani H., Bansal N., Jenkins W.T. et al. Cyclophosphamide Treatment Modifies Tumor Oxygenation and Glycolytic Rates of RIF-1 Tumors: 13C Magnetic Resonance Spectroscopy, Eppendorf Electrode, and Redox Scanning // Cancer Research. 2003a. V. 63. P. 8813–8820.

30. Tianmin X.U., Ying X.I.N., Manhua C.U.I. et al. Inhibitory effect of ginsenoside Rg3 combined with cyclophosphamide on growth and angiogenesis of ovarian cancer // Chin. Med. J. 2007. V. 120. № 7. P. 584–588.

# THE STUDY OF DYNAMICS OF EXPERIMENTAL TUMOR OXYGENATION AFTER CHEMOTHERAPY BY DIFFUSE OPTICAL SPECTROSCOPY

#### T.I. Pryanikova, A.G. Orlova, G.Yu. Golubyatnikov, L.B. Snopova, I.P. Ivanova, A.V. Maslennikova

The possibilities of diffuse optical spectroscopy are demonstrated for noninvasive monitoring of the parameters characterizing the oxygen status of an experimental tumor after chemotherapy. The stabilization of blood oxygen saturation level has been revealed under the action of a cytostatic agent (cyclophosphan) due to the stabilization of the deoxygenated hemoglobin level characterizing the oxygen consumption rate of the tumor tissue.

*Keywords:* tumor oxygen status, hypoxia, experimental tumor, in vivo, diffuse optical spectroscopy, Pliss lymphosarcoma, chemotherapy, cyclophosphan.