

УДК 616-006.04-085.831

*D.V. Vasiljev, A.N. Stukov, M.L. Gelfond***INCREASE OF EFFECT PDT TUMOURS BY PHOTODITAZINE***N.N. Petrov Institute of Oncology, Sent-Petersburg***ABSTRACT**

Chlorine E6 derivative Photoditazine mediates PDT of tumours more effectively at higher doses. Both local and systemic effects were found in vivo. Synchronous PDT and selective distant laser hyperthermia (HT) are not advantageous. Excessive PDT and HT regimens leading to tumour necrosis increase the risk of tumour generalization.

Key words: PDT, chlorine E6, laser hyperthermia, systemic effect, tumour.

*Д.В. Васильев, А.Н. Стуков, М.Л. Гельфонд***ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ
С ПРИМЕНЕНИЕМ ФОТОДИТАЗИНА***НИИ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург***РЕЗЮМЕ**

Повышение дозы производного хлорина Е₆ Фотодитазина улучшает результаты фотодинамической терапии (ФДТ) опухолей in vivo за счет местных и системных эффектов. Синхронная комбинация ФДТ и селективной дистанционной лазерной гипертермии (ГТ) не дает взаимного усиления воздействий. Показано, что появление некрозов опухолей после интенсивных схем ФДТ и ГТ увеличивает риск генерализации опухолевого процесса.

Ключевые слова: ФДТ, хлорин Е₆, лазерная гипертермия, системный эффект, опухоль.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Предстояло оценить возможность повышения эффективности ФДТ с использованием фотосенсибилизатора второго поколения, производного хлорина Е₆ Фотодитазина путем комбинации фотодинамической терапии с дистанционной лазерной гипертермией при длине волны 810 нм, а также за счет увеличения дозы фотосенсибилизатора в пределах терапевтического интервала.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В эксперименте был использован препарат Фотодитазин производства ООО «Вета-Гранд» (Москва). Этот фотосенсибилизатор второго поколения представляет собой хлорин Е₆ с максимумом поглощения, приходящимся на 661 нм.

Для проведения фотодинамической терапии и селективной дистанционной лазерной гипертермии использованы диодные лазеры серии «Аткус» производства ОАО «Полупроводниковые приборы» (Санкт-Петербург). ФДТ проводилась лазером с длиной волны 660 нм и выходной мощностью 800 мВт. Для селек-

тивной дистанционной лазерной гипертермии применялся лазер с длиной волны 810 нм, выходная мощность составляла 2,5 Вт.

В качестве модели опухоли использовалась переносимая карцинома Эрлиха, исторически применяемая для изучения ФДТ [10]. Среди преимуществ модели следует особенно отметить отсутствие гематогенного метастазирования, которое могло бы стать фактором, дополнительно усложняющим оценку результатов [9].

Для перевивки использовалась асцитическая жидкость, разведенная стерильным физиологическим раствором. В обе задние лапы мышей инъецировалось по 10 мкл 10 %-ной взвеси клеток карциномы Эрлиха.

В эксперименте были использованы 144 самца беспородных белых мышей массой 18-20 г на момент начала эксперимента. Все животные были распределены на 5 групп: «Контроль», «Контроль с фотосенсибилизатором (КФС)», «ФДТ», «Гипертермия (ГТ)», «ФДТ + ГТ».

Для пересчета доз применялась методика, описанная Е.У. Freireich et al. [12]. Расчетная терапевтическая доза для лабораторной мыши массой 18-20 г составила ≈ 25 мг/кг. Для изучения зависимости «доза-

эффект», были проведены 3 серии исследований с дозами фотосенсибилизатора:

- 25 мг/кг (серия 1) — стандартная терапевтическая доза;
- 50 мг/кг (серия 2) — удвоенная терапевтическая доза;
- 150 мг/кг (серия 3) — доза, в 6 раз большая терапевтической, но на 13,3% меньшая ЛД₁₀ [14].

Фотодитазин вводился внутривенно за 60 мин до облучения светом. ФДТ продолжалась 5 мин при плотности мощности 40-50 мВт/см². Селективная дистанционная лазерная гипертермия проводилась с плотностью мощности 200-300 мВт/см² в течение 5 мин. Температура опухоли удерживалась в пределах 42-44 °С. При комбинации ФДТ и гипертермии воздействия были синхронны. Облучались правые лапы животных. При этом рост опухолей на лапе с противоположной стороны использовался для изучения системного эффекта воздействия.

Для оценки размеров опухоли производились измерения ее наибольшего сагиттального размера. Наличие и распространенность некроза, а также уровень ампутации оценивались визуально. Для оценки метастазирования производились регулярная пальпаторная оценка и осмотр при посмертном вскрытии пахово-бедренных, подвздошных, аксиллярных и медиастинальных лимфатических узлов [15].

Для обработки результатов была создана собственная компьютерная программа с применением современных общепризнанных методик [1; 4; 5; 8]. Программа обеспечивала сбор и упорядочивание первичных данных, построение выборок, статистическую обработку [2; 3; 7] и визуальное представление результатов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика роста опухолей

Появление некрозов искажало данные измерений опухолей, поэтому анализ динамики роста был ограничен 1-22 сутками эксперимента.

Динамика роста опухолей в контроле

Рост опухолей в контроле статистически не различался как на разных лапах, так и по сериям эксперимента, что позволило в ряде случаев использовать объединенный контроль.

Динамика роста опухолей в группе «ФДТ»

Во всех сериях уже на 1-е сутки после воздействия рост опухолей достоверно замедлялся по сравнению с контролем как на стороне проведения терапии, так и на противоположной. Исключением по срокам начала торможения роста стала серия 3, где замедление динамики роста отмечалось только на 3-4-е сутки, но носило более устойчивый характер (табл. 1).

Во всех сериях на протяжении 14-17 дней после облучения динамика роста опухоли на стороне воздействия замедлялась в большей степени, чем на противоположной (табл. 2). В то же время в серии 2 максимальное значение торможения опухолевого роста было получено на стороне, противоположной воздействию (см. табл. 1).

В серии 3 динамика роста опухоли на стороне воздействия была наиболее замедленной (отличия от серии 1: критерий Манна-Уитни (T), T = 36,00, p < 0,05; критерий ван дер Вандерна, X = 3,430, p < 0,05; критерий Вальда-Вольфовица (r), r = 3, p < 0,025; отличия от серии 2: r = 4, p < 0,025). На противоположной стороне наибольшее замедление роста получено в серии 2 (см. табл. 2), однако самым продолжительным (на » 70 %) оно было в серии 3 (r = 4, p < 0,025).

Динамика роста опухолей в группе «Гипертермия»

Динамика роста опухолей по сериям статистически не различалась, что позволило объединить результаты для сравнения с контролем. Сразу после гипертермии на облученных лапах появлялся отек, проходивший через 24-48 ч. В течение 18 дней после гипертермии размеры опухолей на стороне воздействия были больше, чем в контроле (κ = -0,889; T=84, p < 0,05; парный критерий Уилкоксона (W), W = 36, p < 0,024). На тех же сроках с противоположной стороны отмечено замедление роста опухолей по отношению к «Контролю» (κ = 0,348; W=28, p < 0,05).

Таблица 1

Сравнение динамики роста опухоли с 6 по 21-е сутки в группе ФДТ с контролем

Экспериментальная серия		Коэффициент эффективного торможения роста опухоли, κ*	Парный критерий Уилкоксона	
			Значение	Значимость
1	Справа	0,632	28	p < 0,016
	Слева	0,257	28	p < 0,016
2	Справа	0,474	24	p < 0,046
	Слева	0,684	24	p < 0,046
3	Справа	0,576	28	p < 0,016
	Слева	0,398	21	p > 0,05**

*Коэффициент торможения роста опухолей (по Эммануэлю). Чем больше значение коэффициента эффективного торможения, тем сильнее замедляется рост опухолей в экспериментальной группе по сравнению с контролем.

**Достоверность различий динамики роста опухолей на стороне, противоположной воздействию, в группе «ФДТ» серии 3 по сравнению с контролем была доказана по критерию Манна — Уитни (T), T = 73,00; p < 0,05

Таблица 2

Результаты сравнения динамики роста опухоли с 6 по 21-е сутки в группе ФДТ* на стороне воздействия и на противоположной

Экспериментальная серия	Коэффициент эффективного торможения роста опухоли, к		Парный критерий Уилкоксона	
	Справа	Слева	Значение	Значимость
1	0,632	0,257	28	$p < 0,016$
2	0,474	0,684	24	$p < 0,046$
3	0,576	0,398	27	$p < 0,046$

*ФДТ проводилась справа на 6-е сутки

Таблица 3

Результаты сравнения с контролем динамики изменения размеров опухолей в группе «ФДТ+ГТ» с 6 по 21-е сутки со дня перевивки

Экспериментальная серия	Коэффициент эффективного торможения роста опухоли, к		Статистические критерии		
			Критерий оценки	Значение критерия	Значимость результата
1	Справа	0,517	Критерий Манна-Уитни (T)	70	$p < 0,05$
	Слева	-0,277	Парный критерий Уилкоксона (W)	28	$p < 0,016$
2	Справа	0,715	Парный критерий Уилкоксона (W)	27	$p < 0,046$
	Слева	0,654	Парный критерий Уилкоксона (W)	3	$p > 0,05$
3	Справа	0,432	Парный критерий Уилкоксона (W)	27	$p < 0,046$
	Слева	1,287	Парный критерий Уилкоксона (W)	28	$p < 0,016$

Динамика роста опухолей в группе «ФДТ + ГТ»

Во всех сериях на протяжении первых 14-17 суток со дня проведения терапии скорость роста опухолей на стороне воздействия замедлялась по сравнению с контролем (табл. 3).

На стороне, противоположной воздействию, в серии 1 размеры опухолей были большими, чем в контрольной группе. В серии 2 существенных отличий от «Контроля» показано не было. В серии 3 рост опухолей замедлялся по сравнению с «Контролем» (см. табл. 3).

Сравнение экспериментальных групп между собой

Серия 1

На стороне воздействия в группе «ФДТ» опухоли росли медленнее, чем в группе «Гипертермия» ($T = 77,00$, $p < 0,05$; $X = 3,960$, $p < 0,05$). Рост опухолей в группе «ФДТ + ГТ» замедлялся по сравнению с «Гипертермией» после исчезновения отека ($\approx 24-28$ ч) ($t = 4$, $p < 0,025$). В группе «ФДТ + ГТ» замедление роста продолжалось 8-10 дней, то есть на 3-4 дня дольше ($\approx 70\%$), чем после ФДТ ($T = 86,00$, $p < 0,05$).

На стороне, противоположной воздействию как ФДТ ($X = 4,823$, $p < 0,05$; $T = 28$, $p < 0,05$), так и гипертермия ($X = 4,827$, $p < 0,05$; $T = 28$, $p < 0,05$) вызывали существенно большее замедление роста опухоли, чем комбинация этих методов.

Серия 2

В серии 2 на стороне воздействия максимальный коэффициент торможения роста опухоли был несколько большим в группе «ФДТ + ГТ» ($k = 0,715$), чем в «ФДТ» ($k = 0,474$). В то же время меньший по амплитуде эффект в группе «ФДТ» длился на 3-4 сут дольше ($T = 91$, $p < 0,05$). После гипертермии опухоли росли существенно быстрее, чем после ФДТ ($T = 29$, $p < 0,05$; $t = 3$, $p < 0,025$) или комбинации методов ($T = 29$, $p < 0,05$; $X = 4,657$, $p < 0,05$). На стороне, противоположной воздействию, коэффициенты эффективного торможения (k) были существеннее в группах «ФДТ» ($k = 0,684$) и «ФДТ + ГТ» ($k = 0,654$), чем в «Гипертермии» ($k = 0,348$).

Серия 3

На стороне воздействия скорость роста опухолей в группах «ФДТ» ($T = 24$, $p < 0,05$; $X = 3,78$, $p < 0,05$) и «ФДТ + ГТ» ($T = 28$, $p < 0,05$; $X = 4,82$, $p < 0,05$) была существенно замедлена по сравнению с «Гипертермией». На стороне, противоположной воздействию, динамики роста статистически не отличалась, но амплитуда наблюдавшегося эффекта в группе «ФДТ + ГТ» ($k = 1,287$) была большей, чем в «ФДТ» ($k = 0,398$) и «Гипертермии» ($k = 0,348$).

Продолжительность жизни животных

В группе «Гипертермия» продолжительность жизни по сериям статистически не различалась, что позволило для дальнейшего анализа объединить результаты всех серий в общую группу «Гипертермия» и проводить ее сравнение с объединенным контролем. Животные в группе «Гипертермия» жили в среднем $42,4 \pm 2,9$ дня, в группе «Контроль» — $36,8 \pm 2,6$ дней, динамика смертности в этих группах существенно различалась ($X = 5,55$, $p < 0,05$; $W = 210$, $p < 0,005$). В группе «ФДТ» ($41,1 \pm 2,3$) серии 3 продолжительность жизни животных была достоверно больше, чем в контроле ($36,4 \pm 2,4$) ($r = 4$, $p < 0,025$). Во всех сравниваемых сериях достоверных различий между продолжительностью жизни в группах «ФДТ» и «Гипертермия» найдено не было. В серии 2 животные из группы «ФДТ» прожили дольше, чем в группе «ФДТ + ГТ» ($T = 38$, $p < 0,05$; $r = 4$, $p < 0,025$). В серии 1 продолжительность жизни животных из группы «Гипертермия» была большей, чем в «ФДТ + ГТ» ($T = 28$, $p < 0,05$).

Некрозы опухолей и метастазирование

Некрозы опухолей

Сроки появления некрозов для всех животных в среднем составили $34,5 \pm 9,9$ дней с момента перевивки опухоли. Различия средних сроков появления некрозов в отдельных группах и сериях были статистически незначимы. В то же время имелась достаточно тесная корреляция между появлением первых признаков некроза опухоли на стороне воздействия и метастазированием выше диафрагмы (табл. 4).

Метастазирование опухолей

Для животных групп «Контроль», «Гипертермия», «ФДТ + ГТ» и «КФС» всех серий, а также для группы

«ФДТ» 1-й и 2-й серий появление метастазов выше диафрагмы было неблагоприятным прогностическим фактором (табл. 5).

Для объединенных групп «Контроль» и «Гипертермия» средние сроки появления метастазов выше диафрагмы составили $36,4 \pm$ и $40,1 \pm 5,1$ дней, соответственно. При этом сравнение динамики появления метастазов выше диафрагмы достоверно показало, что после гипертермии метастазирование замедлялось ($X = 5,95$, $p < 0,05$; $K = 3,34$, $p < 0,003$). По сравнению с «Контролем» в группе «ФДТ» метастазы выше диафрагмы появлялись позже в серии 1 ($X = 2,562$, $p < 0,05$; $r = 3$, $p < 0,025$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в ходе исследования эффекты представляется целесообразным подразделить на местные, системные и интегральные.

Местные эффекты — торможение роста опухолей на стороне воздействия могут быть результатом повреждения ДНК [21], клеточных мембран [23], комплекса Гольджи [13] и митохондрий [22], деградации цитоскелета вследствие разрушения микротрубочек [24], эндотелия сосудов [19] с ишемизацией опухоли и последующим реперфузионным шоком [18]. Системные эффекты, в свою очередь, разумно подразделить на ранние (торможение роста опухолей на стороне, противоположной воздействию) и отдаленные (более позднее появление метастазов выше диафрагмы). В основе системных эффектов может лежать активация иммунитета [25] в результате как более эффективной презентации опухолевых антигенов [17], так и модуляции продукции цитокинов [16] по ФДТ и гипертермии. Интегральный эффект — увеличение продолжительности

Таблица 4

Теснота связи между появлением первых признаков некроза опухоли на правой лапе (стороне воздействия для групп «ФДТ», «Гипертермия» и «ФДТ + ГТ») и метастазированием выше диафрагмы

Группы	Коэффициент корреляции Пирсона, r	Уровень значимости
ФДТ (все серии)	0,834	$p < 0,01$
Контроль (все серии)	0,884	$p < 0,01$
Гипертермия (все серии)	0,822	$p < 0,05$
ФДТ + ГТ (все серии)	0,697	$p < 0,2$
КФС (все серии)	0,864	$p < 0,01$
Все животные	0,824	$p < 0,01$

Таблица 5

Связь между появлением метастазов выше диафрагмы и гибелью животного

Группы	Коэффициент корреляции Пирсона, r	Уровень значимости
ФДТ (все серии)*	0,842	$p < 0,01$
Контроль (все серии)	0,875	$p < 0,01$
Гипертермия (все серии)	0,838	$p < 0,05$
ФДТ + ГТ (все серии)	0,934	$p < 0,01$
КФС (все серии)	0,881	$p < 0,01$

* При анализе корреляции в группе «ФДТ» по отдельным сериям наименее тесная корреляция была выявлена в серии 3 ($r = 0,52$, $p < 0,05$)

жизни — результат проявления местных и системных эффектов. Он также зависит от агрессивности опухоли и ее размера на момент начала лечения. В представленном исследовании для надежного измерения размеров опухоли было необходимо начинать лечение только при хорошо определяемых опухолевых узлах. В силу этого можно предположить, что существенная опухолевая масса на момент начала лечения и высокая агрессивность перевиваемой карциномы Эрлиха [9] стали причиной незначительных различий продолжительности жизни между рядом групп, несмотря на наблюдавшиеся выраженные местные и системные эффекты.

На стороне воздействия в группе «ФДТ» наиболее продолжительное торможение роста опухолей было получено в серии 3. Здесь удалось пронаблюдать местный эффект терапии в течение почти 3 нед/ вплоть до появления некрозов опухолей, вносящих серьезную ошибку в измерения. В сериях 1 и 2 местный эффект ФДТ был менее длительным и продолжался порядка 2 недель.

После ФДТ замедление роста опухолей на стороне, противоположной воздействию (ранний системный эффект), отмечалось во всех 3 сериях эксперимента. Однако если в сериях 1 и 2 торможение роста опухолей продолжалось 7-9 дней, то в серии 3 длительность зафиксированного эффекта составила около 3 недель.

В серии 1 выявлено достоверное увеличение сроков появления метастазов выше диафрагмы по сравнению с «Контролем» (отдаленный системный эффект). В серии 2 тенденция сохранилась, хотя достоверных отличий не получено. В серии 3 подобной тенденции не было. Эти данные могли бы показаться противоречивыми, поскольку достоверное увеличение продолжительности жизни в серии 3 не соответствует тесной корреляции между появлением метастазов выше диафрагмы и гибелью животного. Однако дальнейший анализ показал, что именно в группе «ФДТ» серии 3 описанная корреляция отсутствует ($r=0,52$, $p < 0,05$). Следовательно, организм животного был способен долгое время «сосуществовать» с отдаленными метастатическими очагами. Возможно, это стало проявлением более выраженных отдаленных системных эффектов. Если придерживаться мнения об их иммунологической природе, то, вероятно, при использовании в ходе ФДТ больших доз Фотодитазина имела место и большая сенсibilизация организма опухолевыми антигенами. Это вполне соответствует имеющимся данным о высокой иммуногенности опухолевого лизата, получаемого в ходе ФДТ [17]. Большая продолжительность ранних системных эффектов в серии 3 также хорошо объясняется предположением о выраженности иммунных реакций «организм против опухоли». Это позволяет интерпретировать и более длительное местное торможение опухолевого роста. Вероятно, по истечении 2 нед, когда местные эффекты ФДТ угасали в сериях 1 и 2, в серии 3 на первый план выходили эффекты системные, создававшие картину более продолжительного торможения опухолевого роста на стороне воздействия.

Продолжительность жизни после ФДТ в сериях 1 и 2 не имела существенных отличий от контрольных значений. В серии 3 животные в среднем жили дольше, что также свидетельствует о несколько большей эффективности ФДТ при дозе фотосенсибилизатора 150 мг/кг.

В группе «Гипертермия» размеры опухолей на стороне воздействия были больше, чем в «Контроле» (неблагоприятный местный эффект). В то же время на стороне, противоположной месту проведения гипертермии, наблюдалось отчетливое торможение роста опухолей на протяжении почти 3 нед с момента воздействия (положительный ранний системный эффект). После гипертермии метастазы выше диафрагмы появлялись позже, чем в «Контроле» (положительный отдаленный системный эффект). В литературе имеются сведения о важной роли иммунных механизмов в терапии опухолей с помощью лазерной гипертермии [11; 20]. Сходные тенденции в динамике развития ранних системных эффектов после гипертермии и ФДТ серии 3 также косвенно свидетельствуют в пользу предположительно иммунологической природы системных эффектов ФДТ в имеющейся выборке. После гипертермии достоверно замедлялась динамика смертности и имела тенденция увеличения средней продолжительности жизни.

В группе «ФДТ + ГТ» на стороне воздействия отмечено замедление роста опухолей по сравнению с контрольными значениями (местный эффект). Замедление роста опухолей на стороне, противоположной воздействию, получено в серии 3 (ранний системный эффект). Дозовой зависимости эффектов не выявлено. Существенных отличий в сроках появления метастазов выше диафрагмы по сравнению с «Контролем» показать не удалось. При сочетанном применении ФДТ и гипертермии в сериях 1 и 3 существенного увеличения продолжительности жизни показано не было, а в серии 2 отмечена даже меньшая продолжительность жизни, чем в контрольной группе. В целом ожидаемого эффекта суммирования ФДТ и гипертермии получить не удалось. Не отличающаяся от «Контроля» или даже меньшая продолжительность жизни в группе «ФДТ + ГТ» несколько противоречила положительным отличиям от контрольной группы динамики смертности в группе «Гипертермия» всех серий и большей продолжительности жизни в группе «ФДТ» серии 3. В серии 1 после сочетанного применения ФДТ и гипертермии рост опухолей на стороне, противоположной воздействию, был даже ускорен по сравнению с «Контролем», в то время как при раздельном применении этих методов лечения наблюдалось устойчивое замедление роста. Хороший местный эффект в сочетании с почти полным отсутствием системных эффектов и проявлением ранних системных эффектов только в серии 3 группы «ФДТ + ГТ» свидетельствует о слабом суммировании воздействий ФДТ и гипертермии.

Можно было бы предположить, что при одновременном применении этих двух методов лечения суммируются побочные эффекты. Однако в серии 3 при максимальной дозе фотосенсибилизатора, а, следовательно, и при максимальной нагрузке на организм отмечено замедление роста опухоли на стороне, противоположной воздействию, что является лучшим результатом из всех 3 серий.

В ходе эксперимента для всех групп, кроме «ФДТ + ГТ» была продемонстрирована тесная корреляция между возникновением некрозов опухоли и появлением метастазов выше диафрагмы. В свою очередь, имела тесная связь между распространением

процесса выше диафрагмы и гибелью животного. Таким образом, появление некроза опухоли у животных могло рассматриваться как неблагоприятный прогностический признак. Значения коэффициента корреляции между возникновением некрозов опухоли и появлением метастазов для контрольных и экспериментальных групп близки, статистически значимых различий между группами не найдено, т. е. появление некроза было одинаково неблагоприятно, независимо от причины: будь то естественное развитие опухоли или любое лечебное воздействие. Принимая во внимание эти результаты, возможно, не следует стремиться к быстрому некрозу опухоли при проведении ФДТ, гипертермии или их комбинации в условиях клиники.

ВЫВОДЫ

С точки зрения возможной значимости для последующего переноса опыта в клиническую практику важно подчеркнуть следующие аспекты полученных результатов:

- При проведении ФДТ с Фотодитазинном возможным путем повышения эффективности этого метода лечения является увеличение дозы фотосенсибилизатора в пределах терапевтического интервала. На выбранной модели продемонстрирована эффективность шестикратного увеличения терапевтической дозы.
- Следует учитывать, что в результате ФДТ с Фотодитазинном проявляются не только локальные, но и системные эффекты. В клинической практике это может стать особенно ценным при лечении пациентов с распространенным опухолевым процессом или высоким риском генерализации.
- Некроз опухоли после ФДТ неблагоприятен, а потому представляется целесообразным подбор субнекротических доз воздействия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гарсия-Молина Г., Ульман Дж., Уидом Дж. Системы баз данных: Полный курс: Пер. с англ. — М.: Вильямс, 2003. — 1088 с.
2. Гланц С. Медико-биологическая статистика: Пер. с англ. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
3. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение критериев непараметрической статистики в медико-биологических исследованиях: Лекции для врачей. — Л.: ВМА, 1966. — 58 с.
4. Кнут Д.Э. Искусство программирования, 3-е изд., Том 1-3: Пер. с англ.: Уч. пос. — М.: Вильямс, 2000. — 720 с.
5. Страуструп Б. Язык программирования C++, 3-е изд.: Пер. с англ. — СПб., М.: Бином, 1999. — 991 с.
6. Уланова И.П., Сидоров К.К., Халепко А.И. К вопросу об учете поверхности тела экспериментальных животных при токсикологическом исследовании // Токсикология новых промышленных веществ, Л.: Медицина, 1968. — Вып. 10. — С.18-25
7. Урбах В.Ю. Биометрические методы. — М.: АН СССР, 1964. — 415 с.
8. Холлингворт Дж., Баттерфилд Д., Сворт Б. и др. C++ Builder 5. Руководство разработчика, Том 1-2: Пер. с англ.: Уч. пос. — М.: Вильямс, 2001. — 880 с.
9. Экспериментальная оценка противоопухолевых препаратов в СССР и США / под редакцией З.П. Софьиной, А.Б.Сыркина (СССР), А. Година, А. Кляйна (США) — М.: Медицина. — 1979. — 296 с.
10. Berg H., Jungst W. Photodynamic action on solid Ehrlich carcinomas // *Naturwissenschaften*. — 1966. — Vol. 53. — P. 481-482.
11. Feng H., Zeng Y., Graner M. W., Katsanis E. Stressed apoptotic tumor cells stimulate dendritic cells and induce specific cytotoxic T cells // *Blood*. — 2002. — Vol. 100. — P. 4108-4115.
12. Freireich E.G., Gehan E.A., Rall D.P. et al. Quantative comparison of toxicity anticancer cancer agents in mouse, rat, dog, monkey and man // *Cancer Chem. Ther. Reports*. — 1966. — Vol. 50 (4). — P. 219-244.
13. Grebenova D., Kuzelova K., Smetana K. et al. Mitochondrial and endoplasmic reticulum stress-induced apoptotic pathways are activated by 5-aminolevulinic acid-based photodynamic therapy in HL60 leukemia cells // *J. Photochem. Photobiol. B*. — 2003. — Vol. 69. — P. 71-85.
14. Ivanov A.V., Reshetnikov A.V., Ponomarev G.V. One more PDT application of chlorine E6 // *Proc SPIE*. — 2000. — Vol. 3909. — P.131-135.
15. Jung S. Zucht und Haltung der wichtigsten Laboratoriumsversuchstiere / VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 1958. — P. 240-277.
16. Kick G., Messer G., Plewig G. et al. Strong and prolonged induction of c-jun and c-fos proto-oncogenes by photodynamic therapy // *Br. J. Cancer*. — 1996. — Vol. 74. — P. 30-36.
17. Korbelik M., Krosi G. Enhanced macrophage cytotoxicity against tumor cells treated with photodynamic therapy // *Photochem. Photobiol.* — 1994. — Vol. 60. — P. 497-502.
18. Korbelik M., Sun J., Zeng H. Ischaemia-reperfusion injury in photodynamic therapy-treated mouse tumours // *Br. J. Cancer*. — 2003. — Vol. 88 — P. 760-766.
19. Kurohane K., Tominaga A., Sato K. et al. Photodynamic therapy targeted to tumor-induced angiogenic vessels // *Cancer Lett.* — 2001. — Vol. 167. — P. 49-56.
20. Nakayama J., Toyofuku K., Urabe A. et al. A combined therapeutic modality with hyperthermia and locally administered rIFN-beta inhibited the growth of B16 melanoma in association with the modulation of cellular infiltrates // *J. Dermatol. Sci.* — 1993. — Vol. 6. — P. 240-246.
21. Ramakrishnan N., Oleinick N.L., Clay M.E. et al. DNA lesions and DNA degradation in mouse lymphoma L5178Y cells after photodynamic treatment sensitized by chloroaluminium phthalocyanine // *Photochem. Photobiol.* — 1989. — Vol. 50. — P. 373-378.
22. Sharkey S.M., Wilson B.C., Morrehead R., Singh G. Mitochondrial alterations in photodynamic therapy-resistant cells // *Cancer Res.* — 1993. — Vol. 53. — P. 4994-4999.
23. Smith O.M., Traul D.L., Sieber F. Photodamaging effects of merocyanine 540 on neutrophils and HL-60 cells // *Exp. Hematol.* — 1992. — Vol. 20. — P. 1278-1284.
24. Stockert J.C., Juarranz A., Villanueva A., Canete M. Photodynamic damage to HeLa cell microtubules induced by thiazine dyes // *Cancer Chem. Pharmacol.* — 1996. — Vol. 39 — P. 167-169.
25. Yamamoto N., Hooper J.K., Yamamoto N., Yamamoto S. Tumorcidal capacities of macrophages photodynamically activated with hematoporphyrin derivative // *Photochem. Photobiol.* — 1992. — Vol. 56. — P. 245-250.