

М.А. Каплан, Ю.С. Романко, В.В. Попучиев, В.В. Южаков,  
Л.Н. Бандурко, Н.К. Фомина, Л.Н. Михина, А.И. Малыгина, И.Э. Ингель

## Действие фотодинамической терапии с Фотодитазином на рост и функциональную морфологию саркомы М-1

ГУ-Медицинский радиологический научный центр РАМН, г. Обнинск

*Ключевые слова:* фотодинамическая терапия, Фотодитазин, PCNA, AgNOR, апоптоз

Фотодинамическая терапия (ФДТ) представляет собой новый перспективный метод лечения ряда злокачественных новообразований и некоторых других патологических состояний [2–4]. В основе механизма этой терапии лежит цитотоксическое действие синглетного кислорода и других высокоактивных биологических окислителей, которые образуются в ходе фотохимических реакций при межмолекулярном переносе энергии от возбужденного светом сенсibilизатора к кислороду ткани [7–9]. В онкологии ключевую роль играют два компонента ФДТ: фотосенсibilизатор и локальное облучение опухоли светом определенной длины волны, соответствующей пику поглощения сенсibilизатора [9]. Согласно современным представлениям [5], включение того или иного механизма в реализацию противоопухолевого эффекта ФДТ определяется локализацией и уровнем накопления фотосенсibilизатора в опухоли, а также его фотофизическими параметрами и фотохимической активностью.

Целью данного исследования явилось изучение механизма действия ФДТ с применением фотосенсibilизатора нового поколения Фотодитазина на соединительно-тканную опухоль – саркому М-1. Фотодитазин, созданный ООО «ВЕТА-ГРАНД», представляет N-метилглюкаминовою соль хлорида е6. Возбуждение этого сенсibilизатора происходит при воздействии длиной волны 661 нм, что позволяет достичь большей глубины светового воздействия на новообразование по сравнению с препаратами более ранних поколений.

### Методика исследования

Работа выполнена на самцах белых беспородных крыс в возрасте 3 мес. массой тела 160–180 г с имплантированной под кожу в правое бедро саркомой М-1 [1]. На 10-е сут после прививки крысы с опухолевыми узлами правильной формы методом случайного отбора были распределены на 3 группы. 15 животных были включены в контрольную группу, 18 – в группу с введением Фотодитазина (2-я группа) и 20 – в группу с ФДТ после введения Фотодитазина (3-я группа). Объем опухолей на месте прививки рассчитывали по формуле [3]:

$$V = \pi/6 \times D_1 \times D_2 \times D_3,$$

где  $D_1$  – длина,  $D_2$  – ширина, а  $D_3$  – высота опухоли в см.

Коэффициент роста/регрессии опухолей (КРО) определяли как

$$(V_4 - V_0)/V_0,$$

где  $V_0$  – объем опухоли в день экспериментального воздействия (12 сут после прививки),  $V_4$  – объем опухоли через 4 сут.

Интегральный темп роста опухолей рассчитывали по средней геометрической как

$$\sqrt[4]{V(0 \text{ сут}) \times V(4 \text{ сут}) \times V(12 \text{ сут}) \times V(21 \text{ сут})}.$$

Животным 2-й и 3-й группы на 12-е сут роста саркомы внутрибрюшинно вводили Фотодитазин из расчета 2,5 мг/кг массы тела. После введения препарата крысы 2-й группы содержали при обычном режиме естественного освещения. Для



светового воздействия использовали лазерный аппарат «Аткус-2». ФДТ проводили через 1,5 ч после введения Фотодитазина. Параметры светового воздействия: длина волны – 661 нм; плотность мощности – 0,48 Вт/см<sup>2</sup>; плотность световой энергии – 300 Дж/см<sup>2</sup>.

По динамике роста опухолей были определены сроки для гистологического изучения саркомы. В контрольной группе материал для исследования брали на 12-е, 16-е, 24-е и 33-и сут роста опухолей. Во 2-й и 3-й группе – через 3 ч, 4, 12 и 21 сут после введения фотосенсибилизатора или после ФДТ соответственно. Опухоли выделяли в условиях общей анестезии нембуталом. Ткань опухоли вырезали в виде пластинок толщиной 3–4 мм, ориентированных вдоль длинной оси, фиксировали 24 ч в кислой жидкости Буэна, обезвоживали и заливали в HISTOMIX<sup>TM</sup>. Микротомные срезы толщиной 6 мкм помещали на предметные стекла, покрытые пленкой из поли-L-лизина (Sigma).

Для иммуноокрашивания пролиферирующих клеток использовали мышинные моноклональные антитела к PCNA (proliferating cell nuclear antigen) при разведении 1:50 (клон PC10, «Calbiochem») и биотин-стрептавидин-пероксидазный набор для выявления мышинных иммуноглобулинов («ICN»). Функциональную активность опухолевых клеток изучали путем импрегнации ядрышковых организаторов (ЯО) методом AgNOR [9]. Апоптоз клеток определяли на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, и импрегнированных по методу Мозера [1, 6].

Морфометрические исследования выполнены с помощью системы компьютерного анализа микроскопических изображений «IMSTAR». В работе использовали следующие стереологические параметры: объемная доля PCNA ( $\rho_{PCNA}$ ) как отношение суммарной площади иммуноокрашивания на PCNA к общей площади среза опухолевого

узла; количественная плотность ядер опухолевых клеток ( $N_{ЯОК}$ ) как число сечений ядер на единицу площади среза; объемная плотность зон ядрышковых организаторов (интегральный показатель содержания ЯО в объеме ядер). Для изучения пролиферативной активности клеток определяли митотический индекс (МИ) и пролиферативный показатель по PCNA ( $I_{PCNA}$ ), который рассчитывали как отношение количественной плотности PCNA-положительных ядер к  $N_{ЯОК}$ , окрашенных AgNOR. Относительную фракцию пролиферирующих клеток рассчитывали по формуле

$$\Phi_{PCNA} = \rho_{PCNA} \times I_{PCNA} \times K_N,$$

где  $K_N = N_{ЯОК}$  в опыте /  $N_{ЯОК}$  в контроле.

Для каждого животного подсчет соответствующих структур проводили в 60 визуальных тестовых полях общей площадью 1,2 мм<sup>2</sup> по 3 срезам опухоли в зонах максимально выраженной реакции на PCNA. В основу определения тестовой зоны были положены ранее полученные нами результаты изучения гистологического строения саркомы М-1 [1]. МИ и апоптотический индекс (АИ) клеток определяли по стандартной методике с иммерсионным увеличением микроскопа при анализе полей, включающих не менее 3000 ядер опухолевых клеток. Параметры зон ЯО рассчитывали по результатам измерений 100 ядер опухолевых клеток для каждой опухоли; при этом не учитывались ядра, имеющие слившиеся зоны ЯО или разрывы кариолеммы. Для статистической обработки полученных результатов использовали непараметрический  $U$  критерий Манна-Уитни.

### Результаты исследования

Сравнительный рост опухолей в контроле и опытных группах представлен на рис. 1. В контрольной группе рост саркомы М-1 соответству-

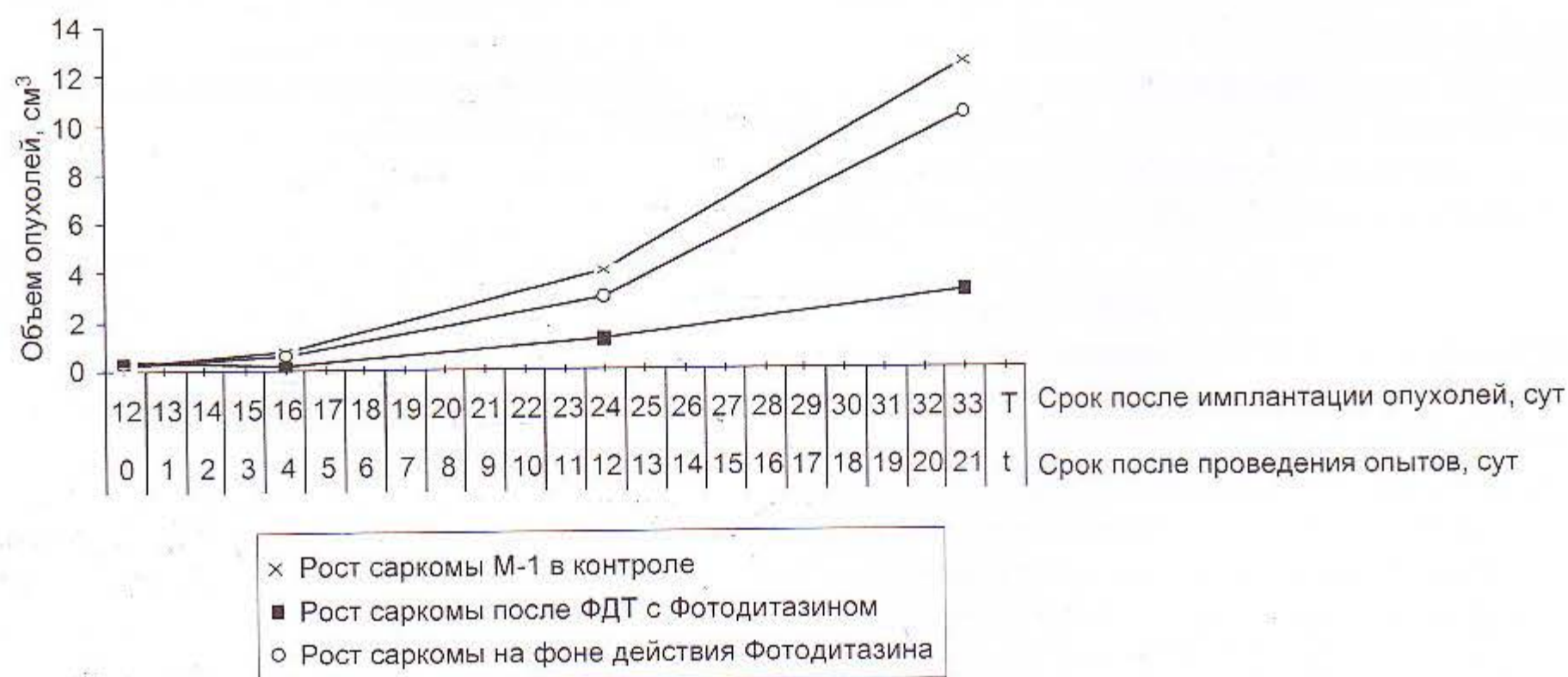


Рис. 1. Рост саркомы М-1 в контроле.



ет кривой, характерной для большинства быстрорастущих экспериментальных опухолей. В начальном периоде КРО =  $2,86 \pm 0,2$  ( $n = 15$ ). Наиболее интенсивный рост наблюдается до 24 сут и носит экспоненциальный характер. До 33 сут темп роста опухолей составил  $1,51 \pm 0,13$ .

После введения Фотодитазина кривая располагается ниже линии роста опухолей в контроле. Анализ кинетики показал, что достоверное снижение прироста опухолей определяется только в первые 4 сут, что свидетельствует о кратковременности ингибирующего влияния Фотодитазина на рост новообразований (КРО =  $1,96 \pm 0,27$ ;  $n = 18$ ,  $p < 0,05$ ). Интегральный темп роста снизился до  $1,32 \pm 0,52$ , однако это различие не существенно.

В 3-й группе животных к 4 сут после ФДТ мы регистрировали регрессию объемов опухолей с последующим возобновлением роста саркомы. В период регрессии КРО стал «отрицательным», а его значение  $-0,68 \pm 0,30$  свидетельствует о высокой противоопухолевой эффективности ФДТ с Фотодитазином. Интегральный темп роста опухолей снизился более чем в два раза относительно контроля и составил  $0,68 \pm 0,30$  ( $p < 0,05$ ).

В контрольной группе саркома М-1 представляет опухоль из полиморфных клеток с явлениями тканевой и клеточной атипии. В опухолевых узлах толщиной до 4 мм PCNA-положительные клетки равномерно распределены по паренхиме. С увеличением размеров узлов более интенсивная реакция ядер клеток на PCNA определяется по периферии опухолей (рис. 2, а), а в центре появляются островки спонтанного некроза. В зонах солидного строения опухолевые клетки плотно прилегают друг к другу. В их ядрах выявляются 1–2 крупных ядрышка и до 5 зон ЯО (рис. 2, б). На гистологических срезах хорошо дифференцируются относительно многочисленные фигуры митоза и единичные апоптотические клетки (рис. 2, в). На 24-е и 33-и сут после прививки заметно усиливается зональная неоднородность строения паренхимы. Сольный тип организации саркомы сохраняется, в основном, по периферии. Кроме того, на 33-и сут даже по периферии опухолей снижается иммуноокрашивание на PCNA. По данным количественного анализа, в исследованном диапазоне роста саркомы М-1 определяются следующие тенденции (табл.). С увеличением объемов опухолей снижается интенсивность

Таблица

Количественные характеристики исследованных параметров саркомы М-1 в контрольной группе, на фоне действия Фотодитазина и после ФДТ с Фотодитазином ( $M \pm m$ )

Показатель	Контроль ( $n = 15$ ; $n^0 = 2$ )				Фотодитазин ( $n = 18$ ; $n^0 = 2$ )				ФДТ с Фотодитазином ( $n = 20$ ; $n^0 = 1$ )			
	12 сут ( $n^+ = 3$ )	16 сут ( $n^+ = 4$ )	24 сут ( $n^+ = 3$ )	33 сут ( $n^+ = 3$ )	3 ч ( $n^+ = 5$ )	4 сут ( $n^+ = 5$ )	12 сут ( $n^+ = 3$ )	21 сут ( $n^+ = 3$ )	3 ч ( $n^+ = 5$ )	4 сут ( $n^+ = 5$ )	12 сут ( $n^+ = 5$ )	21 сут ( $n^+ = 4$ )
Объем опухолей, см <sup>3</sup>	$0,20 \pm 0,02$	$0,73 \pm 0,06$	$4,02 \pm 0,20$	$12,47 \pm 1,02$	$0,22 \pm 0,02$	$0,61 \pm 0,09$	$2,97 \pm 0,53$	$10,36 \pm 1,91$	$0,37 \pm 0,04$	$0,14 \pm 0,05^*$	$1,26 \pm 0,30^*$	$3,19 \pm 1,11^*$
Объемная доля PCNA-положительных клеток	$0,91 \pm 0,02$	$0,79 \pm 0,05$			$0,80 \pm 0,05$	$0,78 \pm 0,03$			$0,36 \pm 0,08^*$	$0,19 \pm 0,09^*$		
Оптическая плотность окрашивания PCNA, усл. ед.	$0,229 \pm 0,010$	$0,208 \pm 0,010$	$0,182 \pm 0,004$	$0,178 \pm 0,004$	$0,183 \pm 0,004^*$	$0,221 \pm 0,010$	$0,187 \pm 0,002$	$0,173 \pm 0,008$	$0,168 \pm 0,029^*$	$0,180 \pm 0,006$	$0,187 \pm 0,023$	$0,186 \pm 0,009$
Количество ядер, окрашенных AgNOR на 1 мм <sup>2</sup>	$4436 \pm 280$	$4315 \pm 179$	$4130 \pm 280$	$4430 \pm 110$	$5124 \pm 169$	$4417 \pm 230$	$3996 \pm 120$	$4303 \pm 123$	$4922 \pm 2234$	$2086 \pm 1074^*$	$2839 \pm 753$	$4244 \pm 262$
I <sub>PCNA</sub> , %	$87,6 \pm 2,3$	$87,9 \pm 2,6$	$81,0 \pm 2,0$	$79,4 \pm 1,4$	$74,3 \pm 2,8$	$88,7 \pm 2,9$	$89,1 \pm 4,6$	$86,4 \pm 2,3$	$54,1 \pm 4,3^*$	$76,8 \pm 5,4$	$80,8 \pm 8,3$	$88,7 \pm 6,8$
Ф <sub>PCNA</sub> , %	$79,6 \pm 6,9$	$67,7 \pm 5,2$			$65,8 \pm 2,4$	$66,8 \pm 3,3$			$22,4 \pm 6,0^*$	$12,5 \pm 8,9^*$		
МИ, %	$1,89 \pm 0,05$	$1,92 \pm 0,11$	$2,12 \pm 0,21$	$2,17 \pm 0,42$	$2,16 \pm 0,26$	$2,54 \pm 0,435$	$2,22 \pm 0,21$	$2,24 \pm 0,36$	$1,67 \pm 0,14$	$2,68 \pm 0,33$	$2,07 \pm 0,25$	$2,16 \pm 0,22$
АИ, %	$0,17 \pm 0,03$	$0,21 \pm 0,03$	$0,25 \pm 0,05$	$0,29 \pm 0,07$	$0,38 \pm 0,03^*$	$0,32 \pm 0,07$	$0,33 \pm 0,06$	$0,32 \pm 0,05$	$0,61 \pm 0,07^*$	$0,32 \pm 0,07$	$0,37 \pm 0,06$	$0,37 \pm 0,12$
Средняя площадь срезов ядер опухолевых клеток, мкм <sup>2</sup>	$93,3 \pm 1,0$	$95,0 \pm 1,4$	$95,1 \pm 1,9$	$98,7 \pm 1,9$	$85,7 \pm 2,9$	$89,5 \pm 2,9$	$91,9 \pm 3,1$	$89,8 \pm 2,8$	$71,8 \pm 7,1^*$	$65,8 \pm 4,3^*$	$80,5 \pm 3,6$	$92,3 \pm 2,0$
Объемное содержание зон ЯО в ядрах опухолевых клеток, %	$8,85 \pm 0,25$	$8,58 \pm 0,09$	$8,58 \pm 0,12$	$10,7 \pm 0,445$	$11,6 \pm 0,45$	$10,6 \pm 0,33$	$9,37 \pm 0,49$	$9,78 \pm 0,04$	$16,7 \pm 0,78^*$	$10,45 \pm 0,48$	$9,61 \pm 0,37$	$10,0 \pm 0,49$
Средние размеры одной зоны ЯО, мкм <sup>2</sup>	$3,67 \pm 0,01$	$3,60 \pm 0,12$	$3,61 \pm 0,16$	$4,59 \pm 0,14$	$4,07 \pm 0,16$	$4,02 \pm 0,17$	$3,71 \pm 0,32$	$3,73 \pm 0,09$	$4,53 \pm 0,21^*$	$2,83 \pm 0,23$	$3,31 \pm 0,321$	$4,07 \pm 0,23$

Примечание. \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контролем на соответствующий срок наблюдения; <sup>+</sup> – указано количество животных, выведенных из эксперимента для изучения морфофункциональных характеристик саркомы М-1; <sup>0</sup> – количество животных, погибших в терминальной стадии роста опухолей.



реакции на PCNA и I<sub>PCNA</sub>. МИ и АИ возрастают. Дистрофические изменения в паренхиме опухолей на 33-и сут сопровождаются увеличением размеров ядер, объемного содержания зон ЯО и их средних размеров.

Через 3 ч после введения Фотодитазина определяется неравномерность зон позитивной реакции ядер клеток на PCNA, особенно по периферии опухолевых узлов. Снижение реакции наблю-

дается вблизи от кровеносных сосудов с характерным изменением градиента интенсивности иммуноокрашивания ядер (рис. 2, г). Патоморфологическое изучение серийных срезов показало, что в этих зонах выявляется нарушение целостности сосудистой стенки, гибель и слущивание эндотелия. Периваскулярно определяется отек с неярко выраженным плазматическим пропитыванием и выходом форменных элементов крови

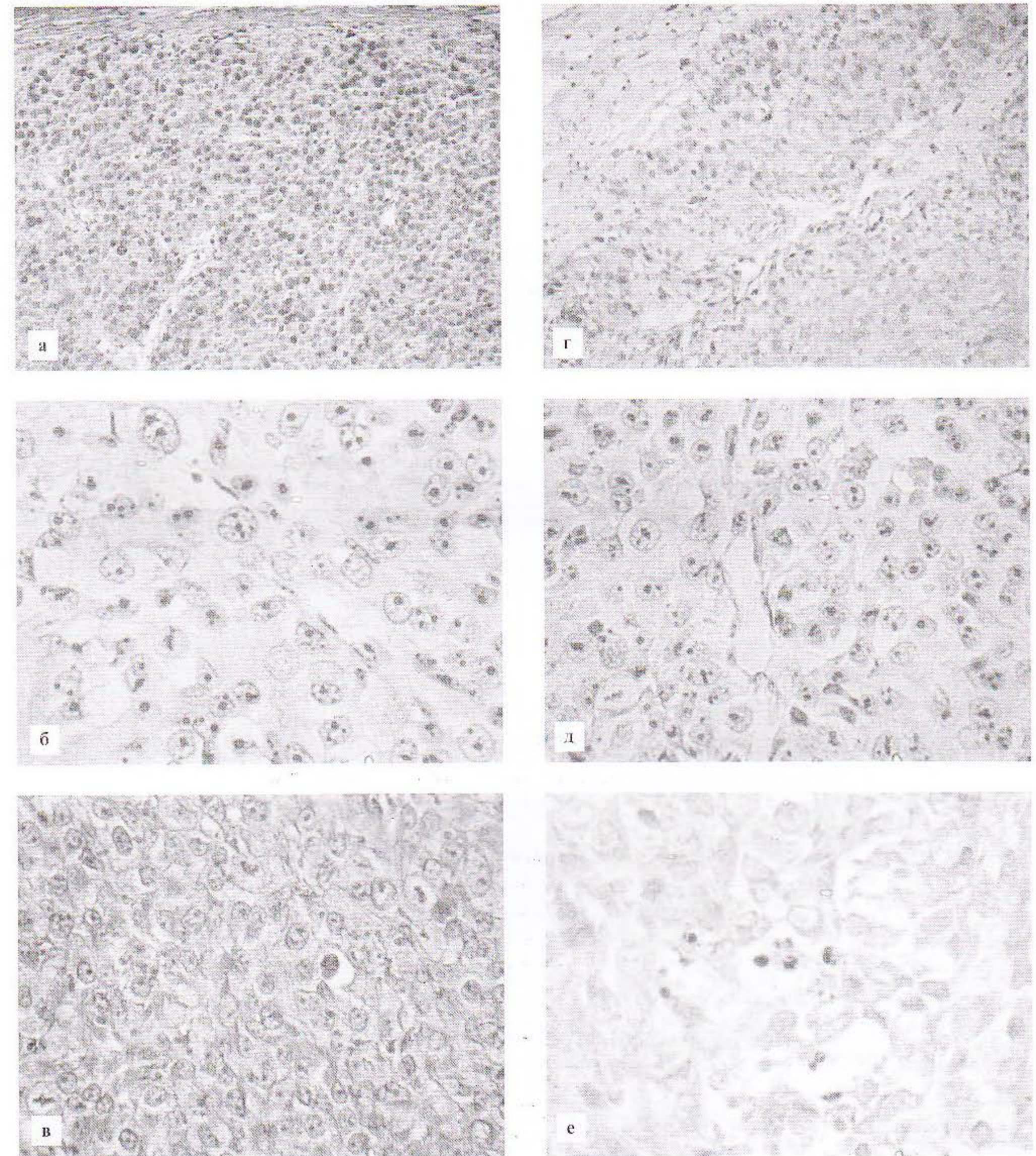


Рис. 2. Функциональная морфология саркомы М-1 в контроле (а–в) и через 3 ч после введения Фотодитазина (г–е); а, г – иммуногистохимическая реакция ядер клеток с антителами к PCNA,  $\times 125$ ; б, д – окрашивание методом AgNOR,  $\times 470$ ; в – окрашивание гематоксилином и эозином,  $\times 370$ ; е – импрегнация по Мозеру,  $\times 470$ .



в межклеточное пространство. Визуально зоны ЯО мало отличаются от контроля (рис. 2, д). Однако некоторые опухолевые клетки подвергаются явному разрушению с разрывом не только плазматической мембраны, но и кариолеммы, что свидетельствует о их гибели путем некроза. Кроме того, в субкапсулярной зоне и вокруг сосудов появляются небольшие скопления апоптотических клеток (рис. 2, е). Согласно результатам морфометрии, через 3 ч после введения Фотодитазина  $\rho_{PCNA}$  интенсивность реакции на PCNA и  $\Phi_{PCNA}$  в целом снижаются на 12%, 20% ( $p < 0,05$ ) и 15% соответственно. МИ увеличивается до  $2,16 \pm 0,26\%$  но, судя по снижению реакции на PCNA, отражает не усиление пролиферативной активности опухолевых клеток, а цитостатическое действие препарата. АИ возрастает в два раза ( $p < 0,05$ ). Прослеживается тенденция к увеличению объемного содержания зон ЯО в ядрах клеток и их средних размеров.

На 4-е сут после введения Фотодитазина в центральных зонах опухолей нарастает дистрофия опухолевых клеток. По периферии опухолей в зонах ранее разрушенных кровеносных капилляров видны пояски некроза. В то же время в субкапсулярных участках определяется явная интенсификация процессов размножения опухолевых клеток, регистрируемая как по увеличению  $I_{PCNA}$ , так и МИ. Через 12 и 21 сут практически все изученные параметры саркомы М-1 находятся в диапазоне варьирования данных, зарегистрированных для контроля в соответствующие сроки наблюдения.

Сразу после подведения световой дозы  $300 \text{ Дж/см}^2$  наблюдается образование эритемы на поверхности кожи над опухолью. Через 3 ч границы опухолей стерты из-за отека тканей, кожа над опухолью приобретает серовато-синюшный оттенок, а в паренхиме выявляются деструктивные изменения. В верхней части опухоли определяются очаги разрушения паренхимы с кровоизлияниями и плазматическим пропитыванием, обусловленные разрывом стенок сосудистого русла. На препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, зоны разрушения приобретают яркую эозинофильную окраску. В большинстве случаев очаги деструкции располагаются под кожей и имеют кратерообразную форму. В некоторых случаях глубина прямого фотоповреждения опухолей достигает основания опухолевых узлов (рис. 3, а).

Вне зон фотодеструкции большинство опухолевых клеток находится в состоянии цитотоксического шока с характерным уплотнением карио- и цитоплазмы и появлением межклеточных щелей, так называемый эффект сжатия опухолевых клеток. В стенке кровеносных сосудов определяется гибель эндотелиальных клеток, а вдоль со-

судов выявляются островки, а иногда и целые поля клеток в состоянии коагуляционного некроза (рис. 3, б). Примечательно, что в зонах цитотоксического шока практически исчезает реакция ядер опухолевых клеток на PCNA (рис. 3, в) и развиваются структурные изменения зон ЯО с потерей их аргирофилии, распадом или формированием конгломератных глыбок (рис. 3, г). Учитывая, что в интерфазных клетках состояние зон ЯО отражает биосинтетический потенциал ядрышек [10], можно считать, что ФДТ с Фотодитазином быстро ингибирует функциональную активность опухолевых клеток.

В зоне основания опухолей сохраняются лишь небольшие фрагменты относительно малоизмененной паренхимы с PCNA-положительными ядрами опухолевых клеток (рис. 3, д). Там же концентрируются клетки с морфологическими признаками апоптоза (рис. 3, е). На препаратах отмечается либо полное отсутствие митотических фигур, либо, напротив, их зональное накопление в стадии метафазы, что свидетельствует о влиянии ФДТ с Фотодитазином на процессы клеточного деления и на повреждение митотического аппарата. Последнее предполагает возможность локализации Фотодитазина в цитоплазме и наличие для него субклеточных мишеней. Обращает внимание, что сосуды подкожной клетчатки, ложа опухолей и окружающей опухоль мышечной и соединительной ткани резко расширены и заполнены стазами эритроцитами. Уже через 3 ч периферия опухолей инфильтрирована многочисленными клетками воспалительного инфильтрата.

По данным компьютерного анализа, через 3 ч после ФДТ  $\rho_{PCNA}$  снижается до  $0,36 \pm 0,08$ ,  $I_{PCNA}$  падает до  $54,1 \pm 4,3\%$ , а расчетное значение  $\Phi_{PCNA}$  в 3,5 раза меньше, чем в контроле. Повышение объемного содержания зон ЯО в выживших клетках до  $16,7 \pm 0,78\%$ , по-видимому, отражает реакцию биосинтетических процессов, направленных на репарацию поврежденных клеточных систем в условиях оксидативного стресса. АИ возрастает до  $0,61 \pm 0,07\%$ , что в 3–3,6 раза больше, чем спонтанный уровень апоптоза в опухолях контрольной группы на 12–16-е сут после прививки и более чем в два раза превышает АИ опухолевых клеток в терминальном периоде роста саркомы. Следовательно, есть основания полагать, что ФДТ с Фотодитазином обладает способностью инициировать гибель клеток путем апоптоза.

На 4-е сут после ФДТ определяется субтотальная деструкция саркомы. Среди погибшей ткани и клеточного детрита видны лишь небольшие прослойки опухолевых клеток в состоянии патоморфоза. В двух случаях в зоне опухолевого ложа сохранились небольшие солидные фрагменты с



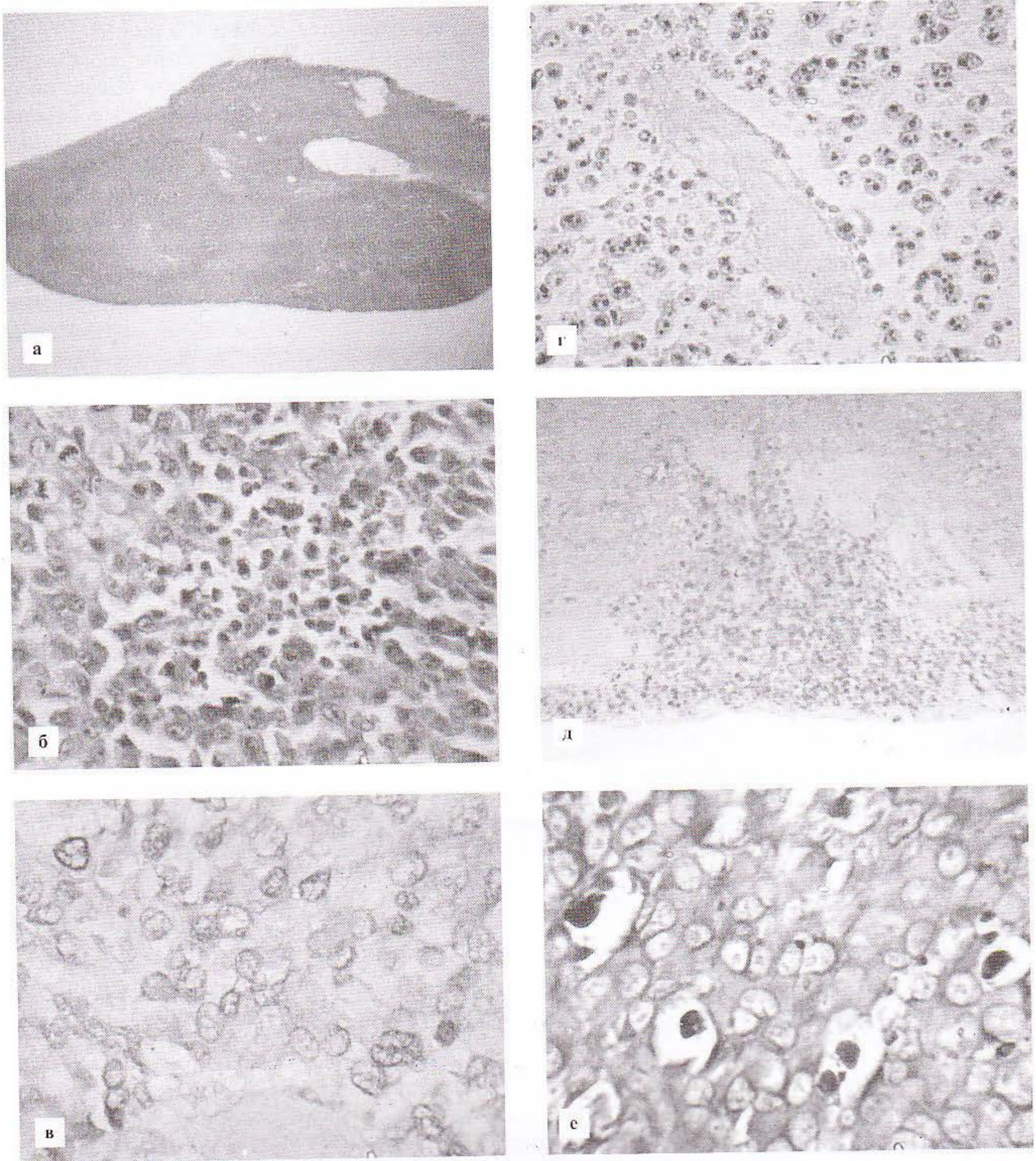


Рис. 3. Действие ФДТ с Фотодитазином на саркому М-1 через 3 ч после световой дозы 300 Дж/см<sup>2</sup>; а, б – окрашивание гематоксилином и эозином, а –  $\times 7,5$ ; б –  $\times 370$ ; в, д – иммуноокрашивание ядер опухолевых клеток на PCNA, д –  $\times 125$ ; г – окрашивание методом AgNOR; е – импрегнация по Мозеру, в, г, е –  $\times 470$ .

признаками возобновления пролиферации клеток. Некротизированные ткани окружены воспалительным валом, состоящим из полиморфно-ядерных лейкоцитов, лимфоцитов и макрофагов, элиминирующих погибшие клетки. Визуализируется замещение зон повреждения грануляционной тканью и интенсивный ангиогенез.  $F_{PCNA}$  на 4-е сут снижается до  $12,5 \pm 8,9\%$ . Однако повышение  $F_{PCNA}$  до  $76,8 \pm 5,4\%$  и усиление

интенсивности окрашивания ядер на PCNA свидетельствует о реоксигенации саркомы, которая, по-видимому, обусловлена прорастанием капиллярных петель до выживших после ФДТ опухолевых клеток и восстановлением микроциркуляции.

Гистологически повторный рост опухолей на 12-е и 21-е сутки после ФДТ носит мультифокальный характер. В этот период по морфофункци-



ональным характеристикам саркома М-1 мало отличается от интактных опухолей (табл.). Обращает лишь внимание интенсивная инфильтрация соединительной ткани, окружающей опухолевые узлы, лимфоцитами. В местах инфильтрации лимфоцитами часть опухолевых клеток подвергается лизису. Кроме того, в этих же зонах гораздо чаще выявляются опухолевые клетки, погибающие путем апоптоза.

### Заключение

Результаты сравнительного исследования роста опухолей и их морфофункциональных характеристик показали, что в ранние сроки после введения Фотодитазин без ФДТ достаточно слабо, но достоверно замедляет рост саркомы М-1. Совокупность полученных данных свидетельствует, что регистрируемые эффекты реализуются через микроциркуляторное русло опухолей и сопровождаются цитотоксическим и цитостатическим действием на опухолевые клетки. По-видимому, фоновые эффекты Фотодитазина представляют естественную фототоксичность, обусловленную взаимодействием обычного света и накопленного в опухоли сенсibilизатора. Результаты комплексного исследования показали выраженную фотодинамическую эффективность Фотодитазина в экспериментах на крысах с имплантированной саркомой М-1. Согласно полученным данным, тканевыми и клеточными мишенями Фотодитазина как сенсibilизатора является стенка сосудистого русла, плазматическая мембрана опухолевых клеток, а также внутриклеточные структуры и механизмы, ответственные за процессы пролиферации и биосинтеза. Противоопухолевое действие ФТД с Фотодитазинном обусловлено разрушением микроциркуляторного русла, быстрым ингибированием пролиферативной и функциональной активности опухолевых клеток, а также индукцией апоптоза и развитием некроза.

### Литература

1. Южаков В.В., Хавинсон В.Х., Кветной И.М., Фомина Н.К., Кузнецова М.И. Кинетика роста и функциональная морфология саркомы М-1 у интактных крыс и после гамма-облучения // *Вопр. онкол.* – 2001. – Т. 47. – № 3. – С. 328–334.
2. Bonnett R. Photodynamic therapy in historical perspective // *Rev. Contemp. Pharmacother.* – 1999. – Vol. 10. – № 1. – P. 1–17.
3. Dolmans D.E., Kadambi A., Hill J.S., Flores K.R., Gerber J.N., Walker J.P., Rinkes I.H., Jain R.K., Fukumura D. Targeting tumor vasculature and cancer cells in orthotopic breast tumor by fractionated photosensitizer dosing photodynamic therapy // *Cancer Res.* – 2002. – Vol. 62. – № 15. – P. 4289–4294.
4. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W., Jori G., Kessel D., Korbelik M., Moan J., Peng Q. Photodynamic therapy // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1998. – Vol. 90. – № 12. – P. 889–905.
5. Kessel D., Dougherty T.J. Agents used in photodynamic therapy // *Rev. Contemp. Pharmacother.* – 1999. – Vol. 10. – № 1. – P. 19–24.
6. Moser B. A silver stain for the detection of apoptosis at the light microscope // *Micr. Anal.* – 1995. – Vol. 37. – P. 27–29.
7. Oleinick N.L., Evans H.H. The photobiology of photodynamic therapy: cellular targets and mechanism // *Radiat. Res.* – 1998. – Vol. 150. – № 5 (Suppl.). – P. S146–S156.
8. Pervaiz S. Reactive oxygen-dependent production of novel photochemotherapeutic agents // *FASEB J.* – 2001. – Vol. 15. – № 3. – P. 612–617.
9. Sibata C.H., Colussi V.C., Oleinick N.L., Kinsella T.J. Photodynamic therapy in oncology // *Expert Opin. Pharmacother.* – 2001. – Vol. 2. – № 6. – P. 917–927.
10. Smetana K., Cajthamlova H., Grebenova D., Hrkal Z. The 5-aminolaevulinic acid-based photodynamic effects on nuclei and nucleoli of HL-60 leukemic granulocytic precursors // *J. Photochem. Photobiol. B.* – 2000. – Vol. 59. – № 1–3. – P. 80–86.

### Action of photodynamic therapy with photoditazin on growth and functional morphology of sarcoma M-1

*M.A. Kaplan, Y.S. Romanko, V.V. Popuchiev, V.V. Yuzhakov, L.N. Bandurko, L.N. Mikhina, N.K. Fomina, A.I. Malygina, I.E. Ingel*

In experiment on rats it was shown the effectiveness and action mechanisms of photodynamic therapy of sarcoma M-1 with use of new khlorin line photosensitizer Photoditazin. It was established that tissue and cellular targets of this preparation are the vessel wall, plasma membrane of tumor cells as well as intracellular structures and mechanisms which responsible for proliferation and biosynthetic processes.