

У.А. Дрозд, Т.И. Кузьмина, Ю.Д. Костина, М.К. Павелец, Д.С. Русанов, Е.Ф. Лацко

Изучение апоптоза в лимфатических узлах зоны абдоминальной лимфодиссекции после интраоперационной фотодинамической терапии при злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта

EIMP

ИЗУЧЕНИЕ АПОПТОЗА В ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛАХ ЗОНЫ АБДОМИНАЛЬНОЙ ЛИМФОДИСЕКЦИИ ПОСЛЕ ИНТРАОПЕРАЦИОННОЙ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

К.В. Павелец^{1,2,3}, В.И. Орёл², В.Ю. Кравцов^{3,4,5}, М.А. Протченков¹, А.П. Дысин^{4,6}, У.А. Дрозд², Т.И. Кузьмина⁵, Ю.Д. Костина^{1,2}, М.К. Павелец^{1,2}, Д.С. Русанов^{1,2}, Е.Ф. Лацко^{1,2}

¹Городская Мариинская больница, Санкт-Петербург, Россия

²Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

³Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

⁴Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия

⁵Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных, Санкт-Петербург, Россия

⁶Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

Резюме

Методом ДНК-электрофореза исследован апоптоз в лимфоузлах после интраоперационной фотодинамической терапии (ФДТ) зоны абдоминальной лимфодиссекции при злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта. Апоптоз («апоптотическую лестницу») определяли в четырех клеточных популяциях лимфоузлов:

- в лимфоузлах с метастазами, не подвергавшихся ФДТ;
- в тех же лимфоузлах с метастазами после ФДТ;
- в лимфоузлах без метастазов, не подвергавшихся ФДТ;
- в тех же лимфоузлах без метастазов после ФДТ.

Дизайн исследования включал интраоперационное разделение лимфоузлов на две части, одна из которых была сразу удалена и не подвергалась воздействию ФДТ, а вторая оставалась неудаленной и подвергалась ФДТ, затем через 60–90 мин после сеанса ФДТ также была удалена и исследована на апоптоз. В результате оказалось, что апоптоз обнаруживается только в лимфоузлах с метастазами, облучённых во время ФДТ. Полученные результаты указывают на тот факт, что в лимфоузлах зоны абдоминальной лимфодиссекции в результате местной интраоперационной ФДТ при злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта злокачественные клетки избирательно гибнут путём апоптоза, а незлокачественные клетки при этом в апоптоз не вступают ($p < 0,01$). Таким образом, полученные клинические данные позволили оценить таргетный эффект ФДТ и подтвердить безопасность фотодинамического воздействия на здоровые ткани лимфоидной системы, находящиеся в зоне облучения.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, апоптоз, фотосенсибилизатор, цитологическое исследование, ДНК-электрофорез.

Для цитирования: Павелец К.В., Орёл В.И., Кравцов В.Ю., Протченков М.А., Дысин А.П., Дрозд У.А., Кузьмина Т.И., Костина Ю.Д., Павелец М.К., Русанов Д.С., Лацко Е.Ф. Изучение апоптоза в лимфатических узлах зоны абдоминальной лимфодиссекции после интраоперационной фотодинамической терапии при злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта // Biomedical Photonics. – 2017. – Т. 6, № 3. – С. 39–44.

Контакты: Кравцов В.Ю., e-mail: kvyspb@mail.ru

АПОПТОСИС IN THE LYMPH NODES OF THE ABDOMINAL LYMPHODISSECTION ZONE AFTER LOCAL INTRAOPERATIVE PHOTODYNAMIC THERAPY OF GASTROINTESTINAL CANCERS

Pavelec K.V.^{1,2,3}, Orel V.I.², Kravtsov V.Yu.^{3,4,5}, Protchencov M.A.¹, Dysin A.V.^{4,6}, Drozd U.A.², Kuzmina T.I.⁵, Kostina U.D.^{1,2}, Pavelec M.K.^{1,2}, Rusanov D.S.^{1,2}, Lacko E.F.^{1,2}

¹City Mariinsky hospital, St-Petersburg, Russia²Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, St-Petersburg, Russia³North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St-Petersburg, Russia⁴Military Medical Academy of S.M. Kirov, St-Petersburg, Russia⁵All-Russian Scientific Research Institute of Genetics and Breeding of Agricultural Animals, St-Petersburg, Russia⁶Saint-Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics, St-Petersburg, Russia

Abstract

The method of DNA-electrophoresis was used to study apoptosis in the lymph nodes of the abdominal lymphodissection zone after local intraoperative photodynamic therapy (PDT) for the gastrointestinal cancers. Apoptosis (apoptotic ladder) was determined in the four cell populations of lymph nodes:

- in the lymph nodes with metastases that have not been irradiated;
- in the irradiated during PDT lymph nodes with metastases;
- in the lymph nodes without metastases that have not been irradiated;
- in the irradiated during PDT lymph nodes without metastases.

The implementation of this study was possible due to intraoperative division of lymph nodes into two parts, one of which was removed while another one intentionally wasn't removed and was irradiated (in human). It was also removed 60-90 minutes after PDT treatment and examined for apoptosis.

As a result, it was found that apoptosis is detected in the irradiated during PDT lymph nodes with metastases. The obtained results show the fact that in the lymph nodes of the abdominal lymphodissection zone tumor cells selectively die by apoptosis as a result of the local intraoperative photodynamic therapy (PDT) for the gastrointestinal cancers while in non-malignant cells apoptosis doesn't occur after PDT ($p < 0.01$).

Thus, the obtained clinical and experimental data made it possible to evaluate the target PDT effect and confirm the safety of the photodynamic effect on healthy tissues of the lymphoid system located in the irradiation zone.

Key words: photodynamic therapy, apoptosis, photosensitizer, cytopathological examination, DNA electrophoresis.

For citations: Pavelec K.V., Orel V.I., Kravcov V.U., Protchencov M.A., Dysin A.V., Drozd U.A., Kuzmina T.I., Kostina U.D., Pavelec M.K., Rusanov D.S., Lacko E.F. Apoptosis in the lymph nodes of the abdominal lymphodissection zone after local intraoperative photodynamic therapy of gastrointestinal cancers, *Biomedical Photonics*, 2017, T. 6, No. 3, pp. 39–44 (in Russian).

Contacts: Kravtsov V.Yu., e-mail: kvyspb@mail.ru

Введение

Метод фотодинамической терапии (ФДТ) по биологическим механизмам предполагает эффективный и селективный способ разрушения клеток злокачественных опухолей без повреждения окружающих здоровых тканей [1]. ФДТ утверждена в качестве самостоятельного метода лечения ряда форм рака благодаря своей низкой системной токсичности и отсутствию феномена опухолевой резистентности к данному воздействию [2–4].

Одним из возможных путей клеточной гибели при ФДТ, наряду с некрозом и аутофагией, является апоптоз [5]. При этом апоптоз рассматривается наиболее эффективным механизмом уничтожения клетки с клинической точки зрения, поскольку образующиеся в результате апоптотические тельца поглощаются макрофагами и соседними клетками, что исключает появление воспалительной реакции [6]. Современные фотосенсибилизаторы (ФС) хлоринового ряда второго поколения, такие как фотодитазин и радахлорин широко используются для ФДТ и хорошо изучены на экспериментальных моделях.

Вместе с тем, до настоящего времени нет сведений о том, что злокачественные клетки, избирательно накопившие фотосенсибилизаторы, после фотоактивации во время сеанса ФДТ гибнут путем апоптоза при ФДТ злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) – пищевода, желудка поджелудочной железы, толстой кишки [7, 8].

Целью настоящей работы было клиническое исследование апоптоза в лимфоузлах зоны абдоминальной лимфодиссекции после местной интраоперационной фотодинамической терапии при злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта. При этом были спланированы такие условия, при которых мы протестировали апоптоз в облученных и необлученных лимфоузлах с метастазами и без. Полученные данные позволили оценить таргетный эффект ФДТ и подтвердить безопасность фотодинамических воздействий на здоровые ткани лимфоидной системы, находящиеся в зоне облучения.

Материал и методы

Исследование проводили в два этапа. Первый – на базе Городской Мариинской больницы, где были оперированы больные злокачественными новообразованиями ЖКТ с проведением интраоперационной ФДТ и был выполнен забор материала для исследований. Второй – на базах Ленинградского государственного университета и Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных, где были осуществлены ДНК-технологии и цитологические исследования.

Метод фотодинамической терапии

За 90–180 мин до начала операций по поводу рака желудка, пищевода, толстой кишки и поджелудочной железы пациентам внутривенно вводили ФС фотодитазин (ООО «БЕТА-ГРАНД», Россия, регистрационное удостоверение №ЛС 001246 от 18.05.2012) или радахлорин (ООО «РАДА-ФАРМА», Россия, регистрационное удостоверение №ЛС-001868 от 16.12.2011) в дозах до 1–1,5 мг/кг массы тела.

При описанных выше локализациях опухолей, после выполнения лапаротомии, ревизии органов брюшной полости и оценки резектабельности пораженного органа через 90–180 мин после введения фотосенсибилизатора в брюшной полости для исследования выбирали лимфатический узел или группу лимфоузлов из зоны предстоящей лимфодиссекции. Критерием выбора узла для исследования являлось его поверхностное расположение с возможностью разделения на две части и удаления одной из частей до сеанса облучения, с последующей диссекцией (после удаления органа, пораженного опухолью) облученной части узла, находящейся *in vivo* еще в течение 60–90 мин. Предпочтение отдавали лимфоузлам плотной консистенции с размером более 1 см (которые имели косвенные макроскопические признаки метастатического поражения). Наиболее часто использовали передне-верхние группы лимфоузлов общей печеночной артерии, чревного ствола – 8 а и 9 по классификации Японской ассоциации по изучению рака желудка (Japanese Gastric Cancer Association, 2015).

Выбранный для исследования лимфоузел разделяли примерно на две равные части острым путем. Для соблюдения принципов антибластики срез удаляемой части лимфоузла коагулировали. Половину узла сразу извлекали, отпечатывали на предметное стекло для цитологических исследований и помещали во флакон с фосфатным буфером для дальнейшего изучения.

Далее проводили сеанс ФДТ с облучением зоны предстоящей лимфодиссекции с оставшейся удаленной частью лимфоидной ткани монохромным красным светом с длиной волны 662 нм, излучаемым

аппаратом «Фара-2» («Аткус», РФ), время облучения – 20 мин, суммарная световая доза – 24 Дж/см².

Облученная по вышеприведенной схеме часть лимфатической ткани оставалась *in vivo* от 60 до 90 мин с сохранением кровоснабжения вплоть до завершения этапа удаления опухоли. Таким образом, после сеанса ФДТ достигалось адекватное моделирование прижизненных эффектов постлучевого патоморфоза.

По прошествии 60–90 мин, как правило, на этапе мобилизации препарата с опухолью выполняли лимфодиссекцию с удалением облученной оставшейся *in vivo* части лимфоузла. Ее отпечатывали на другое предметное стекло для цитологических исследований и переносили во флакон с фосфатным буфером. Материал маркировали и направляли в лабораторию. Флаконы с необлученными и облученными половинами лимфоузлов транспортировали в лабораторию в термостате при температуре 37°C.

Исследование проведено в 80 разделенных (до и после облучения) половинах 40 лимфоузлов, полученных от 30 пациентов оперированных по поводу злокачественных новообразований органов ЖКТ и получивших сеансы интраоперационной ФДТ.

Метод ДНК-электрофореза

Из клеточных суспензий половин лимфоузлов выделяли ДНК методом фенольной экстракции для определения «апоптотической лестницы».

Для анализа фрагментации ДНК использовали метод ДНК-электрофореза. Для этого 1% агарозный гель, содержащий 1 мкг/мл бромистого этидия, помещали в камеру для электрофореза с буфером ТВЕ, после чего окрашенные растворы ДНК заносили в лунки агарозного геля. Электрофорез проходил 1 ч под напряжением 80 В. Дорожки фрагментов ДНК визуализировали путем воздействия на гель УФ-излучения, а затем фотографировали.

Цитопатологическое исследование

Цитологический метод при определении эффективности фотодитазина и радахлорина был необходим для выявления в лимфоузлах наличия метастатических клеток. Препараты, полученные отпечатыванием облученных и необлученных частей лимфоузлов, были окрашены азур-эозином по Романовскому, после чего были изучены с помощью световой микроскопии под увеличением 400х. Таким образом, отбирали половинки лимфоузлов с метастазами и без метастазов.

Исследовательское решение

Выдвинута гипотеза: злокачественные клетки, избирательно накапливающие ФС, после фотоактивации (облучения монохромным светом определенной длины волны, соответствующей максимуму поглощения ФС) во время сеанса ФДТ гибнут путем апоптоза;

незлокачественные клетки после ФДТ в апоптоз не вступают.

Выявление апоптоза электрофоретическим методом фрагментации ДНК («апоптотической лестницы») осуществляли в четырех клеточных популяциях лимфоузлов:

- в лимфоузлах с метастазами, не подвергавшихся ФДТ;
- в тех же лимфоузлах с метастазами после ФДТ;
- в лимфоузлах без метастазов, не подвергавшихся ФДТ;
- в тех же лимфоузлах без метастазов после ФДТ.

Предложенное исследовательское решение возможно, если интраоперационно разделять лимфоузел (или группу лимфоузлов) на две части:

1. часть, удаленную для исследования до сеанса ФДТ и не подвергшуюся облучению;
2. облученную часть, которая во время и после облучения оставалась in human и через 60–90 мин была удалена для исследования на фоне протекающих постфотодинамических внутриклеточных изменений.

Статистический анализ полученных результатов проводили по критерию χ^2 и G-критерию знаков.

На проведение исследования получено разрешение этического комитета Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета, протокол №3/7 от 23.03.2017.

Результаты и обсуждение

Нами были исследованы 40 лимфоузлов, каждый из которых был разделен надвое – 80 половин лимфоузлов. В 23 исследованных лимфоузлах цитологически выявлены метастазы (МТС) рака, в 17 – МТС рака отсутствовали.

В таблице представлены факторные и результативные признаки.

Таким образом, выдвинутая гипотеза о том, что в лимфоузлах зоны абдоминальной лимфодиссекции в результате интраоперационной ФДТ при злокачественных новообразованиях ЖКТ злокачественные клетки избирательно гибнут путем апоптоза, а незлокачественные клетки при этом в апоп-

Таблица

Распределение облученных и необлученных частей лимфоузлов по признакам метастатического поражения и наличию апоптоза (n = 80)

Table

Distribution of irradiated and not irradiated parts of lymph nodes based on the metastatic lesions and the presence of apoptosis (n = 80)

Факторный признак (части лимфоузла) Lymph node parts	Результативный признак (наличие апоптоза) The presence of apoptosis		Итого Total
	АП AR	АН AN	
Метастатически пораженный ЛУ, облученный Lymph node with metastases, irradiated	17	6	23
Метастатически пораженный ЛУ, не облученный Lymph node with metastases, not irradiated	3	20	23
Интактный (без МТС) ЛУ, облученный Lymph node without metastases, irradiated	4	13	17
Интактный (без МТС) ЛУ, не облученный Lymph node without metastases, not irradiated	2	15	17
Всего Total	26	54	80

АП – апоптоз выявлен

АН – апоптоз не выявлен

ЛУ – лимфоузел

Расчетное значение критерия χ^2 составляет 25.905. Критическое значение χ^2 при уровне значимости $p < 0.01$ составляет 11.345. Связь между факторным и результативным признаками статистически значима при уровне значимости $p < 0.01$

AR – Apoptosis identified

AN – Apoptosis not identified

The calculated value of the χ^2 criterion is 25.905. The critical value of χ^2 at the significance level of $p < 0.01$ is 11.345. The relationship between the factor and the outcome is statistically significant at a significance level of $p < 0.01$

тоз не вступают, подтверждается ($p < 0,01$ по критерию χ^2).

Мы использовали еще один статистический критерий – критерий знаков. Если рассматривать необлученные половины лимфоузлов как клеточные популяции до облучения, а вторые половины этих же лимфоузлов после ФДТ – как клеточные популяции после облучения, то получается следующая статистика.

Из 23 лимфоузлов, пораженных МТС, в необлученных частях апоптоз отмечен в 3 случаях. Из 23 лимфоузлов, пораженных МТС, в облученных частях апоптоз отмечен в 17 случаях. Это означает, что при облучении в ходе ФДТ индуцируется апоптоз ($p < 0,01$ по G-критерию знаков).

Из 17 лимфоузлов без МТС в необлученных их частях апоптоз отмечен в 2 случаях. Из 17 лимфоузлов без МТС, в облученных частях апоптоз отмечен в 4 случаях. Это означает, что при облучении в ходе ФДТ апоптоз в лимфоузлах без метастазов не индуцируется ($p > 0,05$, по G-критерию знаков).

Таким образом, критерий χ^2 и G-критерий знаков выявили индукцию апоптоза после ФДТ в лимфоузлах с МТС и не выявили индукцию апоптоза после ФДТ в лимфоузлах с МТС.

Необходимостью продлить сроки и качество жизни пациентов определяется разработка и внедрение новых эффективных методов воздействия на опухолевую ткань в том числе на микроскопические резидуальные участки опухоли, лимфогенные, гематогенные и имплантационные метастазы до, во время и после хирургического вмешательства. Такими признанными методами являются гипертермия, ФДТ, ЛТ и т.д.

В настоящее время, комбинированное лечение злокачественных новообразований определено порядками и стандартами оказания медицинской помощи онкологическим больным. Результаты многоцентровых исследований и метаанализов последнего десятилетия на многотысячных выборках свидетельствуют о достоверном улучшении показателей выживаемости без негативного влияния на ближайшие результаты у пациентов, пролеченных комбинированными методами [8–13].

Хирургические методы лечения исторически и по праву считаются основными в лечении злокачествен-

ных новообразований желудочно-кишечного тракта, они обеспечивают радикализм и оставляют надежду на выживание.

Мультидисциплинарный подход в обеспечении пери- и послеоперационного периода позволяет предусматривать, профилактировать и успешно бороться с осложнениями послеоперационного периода. Нераспознанные микрометастазы рака, резидуальные микроскопические участки первичного очага представляют основную клиническую проблему, снижая результативность хирургического лечения, уменьшая выживаемость и ухудшая прогноз, особенно для пациентов с местно-распространенным опухолевым процессом. Комбинации местного и системного воздействия в сочетании химических, физических и фармакологических методов на опухолевые ткани, в силу их взаимодополнения, представляются наиболее перспективными в решении проблемы результативности лечения онкологических больных.

Результаты представленной работы, в которой фактически дана очень высокая оценка таргетного противоопухолевого эффекта ФДТ, в значительной степени обнадеживают.

Заключение

Используя метод определения ДНК-фрагментации с целью выявления апоптоза, мы доказали, что апоптоз после фотодинамической терапии индуцируется в лимфоузлах, содержащих метастазы, и не возникает в интактных лимфоузлах. Это свидетельствует об избирательной способности фотосенсибилизаторов вызывать гибель злокачественных клеток. Так же подтверждено отсутствие побочного эффекта в виде апоптоза лимфоидных клеток. Это доказывает одно из преимуществ интраоперационной фотодинамической терапии, касающееся отсутствия иммуносупрессии.

Таким образом, результаты данной работы подтверждают способность фотодинамической терапии с использованием фотодитазина и радахлорина избирательно вызывать апоптоз метастатических клеток в лимфоузлах зоны абдоминальной лимфодиссекции при злокачественных новообразованиях органов ЖКТ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Dougherty T.J. Photodynamic therapy // *Photochemistry and Photobiology*. – 1993. – Vol. 58. – P. 895-900.
2. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W., Jori G., Kessel D., Korbek M., Moan J., Peng Q. Photodynamic therapy // *Journal of the National Cancer Institute*. – 1998. – Vol. 90. – P. 889-905.
3. Reynolds T. Photodynamic therapy expands its horizons // *Journal of the National Cancer Institute*. – 1997. – Vol. 89. – P. 112-114.
4. Rowe P.M. Photodynamic therapy begins to shine // *Lancet*. – 1998. – Vol. 351. – P. 1496.
5. Mroz P., Yaroslavsky A., Kharkwal G.B., Hamblin M.R. Cell death pathways in photodynamic therapy of cancer // *Cancers (Basel)*. – 2011. – Vol. 3(2). – P. 2516-2539.
6. Сербин М.Е., Щербак Е.В. Апоптоз и его молекулярные эффекторы / Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии: Сборник // Под ред. проф., д.м.н. Н.Н. Ильинских. – Томск: Сибирский государственный медицинский университет, 2004. – Вып. 1.
7. Wen L.Y., Bae S.-M., Do J.H., et al. The effects of photodynamic therapy with Photodithazine on HPV 16 E6/E7 associated cervical cancer model // *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*. – 2011. – Vol. 15(3). – P. 174-180.
8. Mirzaei H., Djavid G.E., Hadizadeh M., et al. The efficacy of Radachlorin-mediated photodynamic therapy in human hepatocellular carcinoma cells // *Photochemistry and Photobiology*. – 2015. – Vol. 142. – P. 86-91.
9. Ajani J.A., Bentrem D.J., Besh S., et al. Gastric Cancer, Version 2.2013: featured updates to the NCCN Guidelines // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. – 2013. – Vol. 11(5). – P. 531-546.
10. Ajani J.A., D'Amico Th.A., Almhanna K., et al. Esophageal and Esophagogastric Junction Cancers, version 1.2015. // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. – 2015. – Vol. 13(2). – P. 194-227.
11. Tempero M. Active Systemic Treatment of Pancreatic Cancer // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. – 2017. – Vol. 15. – P. 723-725.
12. Messersmith W.A. Systemic Management of Colorectal Cancer // *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*. – 2017. – Vol. 15. – P. 699-670.
13. Соколов В.В., Филоненко Е.В. Комбинированное лечение стенозирующего рака пищевода: реканализация, эндопротезирование и фотодинамическая терапия // *Паллиативная медицина и реабилитация*. – 2004. – № 2. – С. 49b-49.

REFERENCES

1. Dougherty T.J. Photodynamic therapy, *Photochemistry and Photobiology*, 1993, Vol. 58, pp. 895-900.
2. Dougherty T.J., Gomer C.J., Henderson B.W., Jori G., Kessel D., Korbek M., Moan J., Peng Q. Photodynamic therapy, *Journal of the National Cancer Institute*, 1998, Vol. 90, pp. 889-905.
3. Reynolds T. Photodynamic therapy expands its horizons, *Journal of the National Cancer Institute*, 1997, Vol. 89, pp. 112-114.
4. Rowe P.M. Photodynamic therapy begins to shine, *Lancet*, 1998, Vol. 351, pp. 1496.
5. Mroz P., Yaroslavsky A., Kharkwal G.B., Hamblin M.R. Cell death pathways in photodynamic therapy of cancer, *Cancers (Basel)*, 2011, Vol. 3(2), pp. 2516-2539.
6. Serbin M.E., Shcherbak E.V. Apoptosis and its molecular effectors, in *Aktual'nye problemy biologii, meditsiny i ekologii, Sbornik [Actual problems of biology, medicine and ecology, Collection]*, by ed Il'inskih N.N. Tomsk, Sibirskii gosudarstvennyi meditsinskii universitet Publ., 2004, Is. 1. (in Russian).
7. Wen L.Y., Bae S.-M., Do J.H., Park K.-S., Ahn W.S. The effects of photodynamic therapy with Photodithazine on HPV 16 E6/E7 associated cervical cancer model, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 2011, Vol. 15(3), pp. 174-180.
8. Mirzaei H., Djavid G.E., Hadizadeh M., Jahanshiri-Moghadam M., Hajian P. The efficacy of Radachlorin-mediated photodynamic therapy in human hepatocellular carcinoma cells, *Photochemistry and Photobiology*, 2015, Vol. 142, pp. 86-91.
9. Ajani J.A., Bentrem D.J., Besh S., D'Amico T.A., Das P., Denlinger C., Fakih M.G., Fuchs C.S., Gerdes H., Glasgow R.E., Hayman J.A., Hofstetter W.L., Ilson D.H., Keswani R.N., Kleinberg L.R. Gastric Cancer, Version 2.2013: featured updates to the NCCN Guidelines, *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 2013, Vol. 11(5), pp. 531-546.
10. Ajani J.A., D'Amico Th.A., Almhanna K., Bentrem D.J., Besh S., Chao J., Das P., Denlinger C., Fanta P., Fuchs C.S., Gerdes H., Glasgow R.E., Hayman J.A., Hochwald S., Hofstetter W.L., Ilson D.H., Jaroszewski D., Jaspersen K., Keswani R.N., Kleinberg L.R., Korn W. M., Leong S., Lockhart A.C., Mulcahy M.F., Orringer M.B., Posey J.A., Poultsides G.A., Sasson A.R., Scott W.J., Strong V.E., Varghese T.K.Jr, Washington M.K., Willett C.G., Wright C.D., Zelman D., McMillian N., Sundar H. Esophageal and Esophagogastric Junction Cancers, version 1.2015., *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 2015, Vol. 13(2), pp. 194-227.
11. Tempero M. Active Systemic Treatment of Pancreatic Cancer, *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 2017, Vol. 15, pp. 723-725.
12. Messersmith W.A. Systemic Management of Colorectal Cancer, *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 2017, Vol. 15, pp. 699-670.
13. Sokolov V.V., Filonenko E.V. Combined treatment of obstructing esophageal cancer: recanalization, endoprosthesis and photodynamic therapy, *Palliativnaya meditsina i reabilitatsiya*, 2004, No. 2, pp. 49b-49. (in Russian).