

ИЗУЧЕНИЕ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭНЕРГИИ СВЧ И ЗОЛОТЫХ НАНОЧАСТИЦ НА ОПУХОЛИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

УДК 595.37:616.001.6—006—092.9

Поступила 13.07.2012 г.



М.А. Сироткина, младший научный сотрудник проблемной научной группы «Биофотоника» НИИ ПФМ¹; аспирант кафедры биомедицины²;

В.В. Елагин, младший научный сотрудник проблемной научной группы «Биофотоника» НИИ ПФМ¹; аспирант кафедры биомедицины²;

А.А. Макарова, студентка кафедры биомедицины²;

Л.Б. Снопова, д.б.н., доцент, зав. отделом морфологии ЦНИЛ НИИ ПФМ¹;

Н.Н. Проданец, старший научный сотрудник отдела морфологии ЦНИЛ НИИ ПФМ¹;

А.В. Стриковский, научный сотрудник лаборатории моделирования космической плазмы³;

А.Г. Галка, аспирант лаборатории моделирования космической плазмы³;

А.В. Костров, д.ф.-м.н., зав. лабораторией моделирования космической плазмы³;

Е.В. Загайнова, д.м.н., зам. директора НИИ ПФМ¹; зав. кафедрой биомедицины²

¹Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

²Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского — Национальный исследовательский университет, Н. Новгород, 603950, проспект Гагарина, 23;

³Институт прикладной физики РАН, Н. Новгород, 603155, ул. Ульянова, 46

Цель исследования — изучение особенности воздействия энергии сверхвысокой частоты (СВЧ) на опухоли в присутствии золотых наночастиц.

Материалы и методы. Исследование выполнено на экспериментальной опухолевой модели рака шейки матки (РШМ-5). В работе использованы золотые наночастицы в форме стержней, размером 60х30 нм. Наночастицы вводили животным (мышам) внутривенно в дозе 150 мкг/кг. Проведено сравнение эффективности следующих импульсных режимов: 50 Дж (троекратно) и 150 Дж (однократно). Критерием эффективности служили показатели торможения роста опухоли и увеличения продолжительности жизни, а также структурные изменения опухолевой ткани, выявленные методом световой микроскопии.

Результаты. Наибольшую противоопухолевую активность оказал режим троекратного СВЧ-воздействия энергией 50 Дж, как с золотыми наночастицами, так и без них. Воздействуя СВЧ-энергией низкой мощности, удалось добиться как более выраженных изменений структуры опухоли, так и замедления ее роста и увеличения продолжительности жизни животных. Показано, что при СВЧ-терапии золотые наночастицы не оказывают заметного влияния на противоопухолевое действие.

Ключевые слова: локальное СВЧ-воздействие; опухолевая модель; золотые наночастицы; световая микроскопия.

English

The Study of Combined Effect of Microwave Energy and Gold Nanoparticles on Tumour in Experiment

M.A. Sirotkina, Junior Research Worker of Problem Scientific Group “Biophotonics”, Scientific Research Institute of Applied and Fundamental Medicine¹; Postgraduate of the Department of Biomedicine²;

V.V. Elagin, Junior Research Worker of Problem Scientific Group “Biophotonics”, Scientific Research Institute of Applied and Fundamental Medicine¹; Postgraduate of the Department of Biomedicine²;

A.A. Makarova, Student, the Department of Biomedicine²;

L.B. Snopova, D.Bio.Sc., Associate Professor, Head of the Morphology Department, Central Scientific Research Laboratory of Scientific Research Institute of Applied and Fundamental Medicine¹;

N.N. Prodanets, Senior Research Worker, the Morphology Department, Central Scientific Research Laboratory of Scientific Research Institute of Applied and Fundamental Medicine¹;

A.V. Strikovskiy, Research Worker, the Space Plasma Simulation Laboratory³;

A.G. Galka, Postgraduate, the Space Plasma Simulation Laboratory³;

A.V. Kostrov, D.Ph.-Math.Sc., Head of the Space Plasma Simulation Laboratory³;

E.V. Zagaynova, D.Med.Sc., Deputy Director of Scientific Research Institute of Applied and Fundamental Medicine¹; Head of the Department of Biomedicine²

Для контактов: Сироткина Марина Александровна, тел. моб. +7 904-060-68-73; e-mail: sirotkina_m@mail.ru

¹Nizhny Novgorod State Medical Academy, Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603005;

²Nizhny Novgorod State University named after N.I. Lobachevsky — National Research University, Gagarin Avenue, 23, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603950;

³Institute of Applied Physics of Russian Academy of Sciences, Ul'yanova St., 46, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603155

The aim of the investigation is to study the characteristics of the effect of microwave energy on tumours in the presence of gold nanoparticles.

Materials and Methods. The research was carried out on experimental tumour model cervical cancer. In the experiment there were used gold nanoparticles in the form of nanorod, 60x30 nm in size. Nanoparticles were injected to animals (mice) intravenously, 150 µg/kg. There was compared the efficiency of the following pulse sequences: 50 J (three times) and 150 J (once). The criteria of efficiency were the indices of tumour growth inhibition, and the increase of longevity, as well as structural changes of tumour tissue revealed by optical microscopy.

Results. The highest anti-tumour activity was demonstrated by three times sequence of microwave energy of 50 J, just as with, so without gold nanoparticles. The effect of microwave frequency of low capacity could contribute to both significant changes of tumour structure, and tumour growth inhibition and the increase of longevity of the animals. Gold nanoparticles in microwave therapy were shown to have no marked contribution to anti-tumour effect.

Key words: local microwave exposure; tumour model; gold nanoparticles; optical microscopy.

Локальная гипертермия признана одним из наиболее эффективных модифицирующих способов в комплексном лечении онкологических больных, поскольку обеспечивает сенсбилизацию опухоли к химиопрепаратам и ионизирующему излучению. Однако в последнее время значительно вырос интерес онкологов к локальной гипертермии как к самостоятельному методу терапии [1]. Установлено, что при разогреве опухоли до температуры 43–45°C происходит гибель опухолевых клеток [2, 3], а по некоторым данным — запуск апоптоза [4].

В настоящее время развитие локальной гипертермии идет по двум направлениям: подбор оптимальных режимов и источников воздействия для каждой опухоли и применение наноагентов для повышения эффективности лечения [5]. Из широкого спектра известных на сегодняшний день наноагентов особое место отводится золотым наночастицам (ЗНЧ). Они биосовместимы, обладают низкой токсичностью, способны накапливаться в опухоли и эффективно конвертировать энергию падающего излучения в тепловую [6]. Еще одно преимущество ЗНЧ перед другими наноагентами — это возможность прижизненно контролировать их накопление в опухоли неинвазивными оптическими методами [7–9]. ЗНЧ благодаря способности генерировать поверхностный плазмонный резонанс повышают эффективность лазерной гипертермии [10–12], поскольку их применение позволяет снизить дозу подводимого излучения, необходимую для инициации необратимых повреждений, в 10–25 раз [10].

Авторами ранее [13, 14] выявлено усиление противоопухолевого действия лазерной гипертермии экспериментальной опухоли за счет применения ЗНЧ. Показано, что использование этих наночастиц повышает прицельность воздействия, приводит к быстрому и равномерному прогреву в глубине опухолевой ткани. Получив блестящий результат по лазерной гипертермии с ЗНЧ, наша научная группа стала заниматься разработкой нового перспективного метода терапии экспериментальных опухолей — электромагнитное

воздействие в СВЧ-диапазоне. В представленном исследовании мы искали ответ на вопрос, можно ли существенно повысить эффективность этого метода посредством применения ЗНЧ.

В зарубежной литературе можно встретить единичные работы, где ЗНЧ с успехом применяли для электромагнитной гипертермии [15, 16], российских публикаций на эту тему нет.

Цель исследования — изучение особенностей воздействия энергии СВЧ на экспериментальные опухоли в присутствии золотых наночастиц.

Материалы и методы. Исследование проводилось на самках мышей линии СВА массой 18–20 г. Влияние СВЧ-воздействия изучено на модели перевиваемой солидной опухоли рака шейки матки (РШМ-5) у мышей. Опухоль моделировали путем подкожной инъекции гомогенизированной взвеси опухолевой ткани животного-опухоленосителя.

При выполнении исследований неукоснительно соблюдались этические принципы, установленные Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (принятой в Страсбурге 18.03.1986 и подтвержденной в Страсбурге 15.06.2006).

Исследования проводили на 14-й день после перевивки, когда опухолевый узел был полностью сформирован и хорошо пальпировался. В день проведения эксперимента объем опухоли достигал 0,25±0,08 см³.

В работе применяли раствор ЗНЧ, синтезированный в форме палочек. Размер наночастиц составлял 60x30 нм, концентрация в растворе — 30 мкг/мл, стабилизация полиэтиленгликолем — 6000 Да. ЗНЧ вводили внутривенно в дозе 150 мкг/кг массы животного.

С целью локального СВЧ-воздействия использовали установку для контролируемой СВЧ-термодеструкции КСТД-1, разработанную в Институте прикладной физики РАН (Нижний Новгород, Россия). Данное устройство имеет следующие технические характеристики: длина волны — 12,5 см, частота колебаний — 2,45 ГГц, вы-

ходная мощность — от 0,5 до 450 Вт, глубина воздействия — до 5 мм, длительность воздействия — 100 до 400 мс. Воздействие осуществляли контактным способом с помощью аппликатора диаметром 10 мм. Температуру опухоли контролировали с поверхности с помощью ИК-термографа (ИРТИС-2000 МЕ, Россия).

СВЧ-воздействие проводили через 5 ч после инъекции ЗНЧ. Это соответствовало периоду максимального их накопления, установленному нами ранее [13] на основе прижизненного исследования методом оптической когерентной томографии (ОКТ). Сравнивали влияние двух импульсных режимов СВЧ-воздействия: 150 Дж (однократно) и 50 Дж (троекратно через сутки).

Животных разделили на группы:

- 1) опытная (n=10) — с сочетанным действием СВЧ-энергии и ЗНЧ;
- 2) опытная (n=10) — с СВЧ-воздействием;
- 3) контрольная (n=5) — без воздействия.

После СВЧ-воздействия наблюдали за динамикой роста опухолей. Эффективность метода оценивали по критериям торможения роста опухоли (ТРО, %) и увеличения продолжительности жизни (УПЖ, %) [17]. Минимальными критериями активности метода считали ТРО ≥ 50%, УПЖ ≥ 25%.

Для морфологического исследования образцы опухолей забирали через 24 ч после воздействия. Материал фиксировали в 10% нейтральном формалине, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 5 мкм получали на микротоме Leica SM2000R (Германия), окрашивали гематоксилином и эозином и изучали с помощью микроскопа Leica DM 1000 (Германия).

Результаты. Модернизация метода электромагнитной терапии выполнялась по трем направлениям.

I. Известно, что с использованием электромагнитного поля (ЭМП) сверхвысоких частот растет поглощаемая мощность на единицу объема биоткани. Таким образом, при одинаковых подводимых мощностях нагрев биоткани в СВЧ-диапазоне будет на несколько порядков эффективнее и, как следствие, позволит получить высокие скорости нагрева обрабатываемой области (несколько секунд вместо нескольких десятков минут). В данной работе впервые использовано электромагнитное воздействие с частотой порядка гигагерц. Это на три порядка выше, чем в существую-

щих на сегодняшний день методиках электромагнитной терапии.

II. Применение биполярной системы электродов, которая позволяет повысить прицельность подводимой к патологической области СВЧ-энергии и тем самым минимизировать негативное влияние на окружающие здоровые ткани. Сегодня чаще всего используют монополярные электроды, когда ток высокой частоты неконтролируемо протекает через все тело пациента.

III. Использование ЗНЧ. Основываясь на проведенных математических расчетах диэлектрической проницаемости среды, содержащей ЗНЧ, мы предположили, что ЗНЧ в форме палочек, находясь в ЭМП, могут вести себя как диполи, т.е. усиливать напряженность ЭМП на концах частицы (минимум в три раза) и, соответственно, удельную мощность, выделяющуюся вокруг ЗНЧ. Таким образом, при достаточной концентрации ЗНЧ можно добиться высокого терапевтического эффекта при гораздо меньшей подводимой мощности излучения.

Предварительные исследования. На здоровом участке кожи мышей подбирали режимы СВЧ-воздействия (от 50 до 250 Дж) до появления видимых изменений (ожога). Начальная температура кожи составляла 37,0–37,4°C (см. таблицу).

Обнаружено, что СВЧ-энергия свыше 200 Дж вызывает ожог кожи и не может быть использована для дальнейших исследований, поэтому были выбраны и апробированы на опухоли РШМ-5 следующие режимы: 200 Дж, иницирующий эффект гипертермии, и для сравнения — 50 Дж, не вызывающий нагрев ткани.

Влияние выбранных режимов на опухоль РШМ-5 оценивали методом световой микроскопии на 1-е и 5-е сутки после СВЧ-воздействия. Морфологический анализ структуры РШМ-5 показал, что СВЧ-воздействие энергией 200 Дж как с ЗНЧ, так и без наночастиц вызывает нежелательный эффект — коагуляцию опухолевой ткани. После воздействия энергией 50 Дж в 1-е сутки деструктивные изменения наблюдаются, однако на 5-е сутки опухолевая ткань состоит преимущественно из активно пролиферирующих клеток. Следовательно, СВЧ-терапия 50 Дж является щадящей по воздействию, но одного сеанса для уничтожения раковых клеток недостаточно.

Таким образом, для дальнейшего исследования было выбрано троекратное СВЧ-воздействие энергией 50 Дж с интервалом 1 день и однократное СВЧ-воздействие энергией 150 Дж, вызывающее умеренную гипертермию.

Изучение противоопухолевой эффективности энергии 150 Дж (однократно) и 50 Дж (множественно). Численная обработка ИК-термограмм, полученных сразу после СВЧ-воздействия, показала, что СВЧ-энергия 50 Дж не вызывает нагрева биологической ткани (36,65°C), в то время как энергия 150 Дж приводит к небольшому нагреву (41,19°C). Применение ЗНЧ не оказало влияния на общий нагрев опухолей. Однако не исключен локальный микроразогрев вокруг каждой частицы за счет возрастания напряженности ЭМП, приводящий к серьезным повреждениям опухолевых клеток.

Температура кожи и видимый эффект после СВЧ-воздействия

Проявления на коже	Режим, Дж				
	50 (t ₁ =20, t ₂ =5)	100 (t ₁ =20, t ₂ =10)	150 (t ₁ =20, t ₂ =15)	200 (t ₁ =20, t ₂ =20)	250 (t ₁ =20, t ₂ =25)
Температура поверхности опухоли, °C	37,6	40,0	42,0	45,0	46,3
Видимый эффект	Нет	Нет	Нет	Нет	Ожог

Примечание: t₁ — количество импульсов в пачке, t₂ — количество пачек.

Анализ динамики роста опухолей в разных группах животных после СВЧ-воздействия в течение 14 дней после него (рис. 1) показал, что сочетанное действие СВЧ-энергии, как 150 Дж (однократно), так и 50 Дж (троекратно), с ЗНЧ оказало противоопухолевый эффект в виде торможения роста опухоли по сравнению с контрольной группой. Воздействие СВЧ-энергии 150 Дж без ЗНЧ также показало тенденцию к замедлению темпов роста опухоли. Статистически значимое отличие от контрольной группы наблюдалось у всех групп, за исключением режима 150 Дж без ЗНЧ. Однако достоверной разницы в динамике роста опухолей при сочетанном воздействии энергии СВЧ и ЗНЧ по сравнению с простым СВЧ-воздействием не обнаружено.

По коэффициентам ТРО наибольшим противоопухолевым эффектом обладает сочетанное действие СВЧ-энергии 50 Дж (троекратно) и ЗНЧ: максимальное значение ТРО — 68% на 14-й день. Простое СВЧ-воздействие энергией 50 Дж (троекратно) также показало противоопухолевую активность: ТРО составило 62% на 14-й день. При других режимах воздействия значения ТРО не превышали 50%.

Наибольшей продолжительностью жизни обладали животные из обеих групп с троекратным воздействием энергией 50 Дж: в группе животных с сочетанным действием СВЧ-энергии 50 Дж с ЗНЧ УПЖ составило 58%, в группе 50 Дж без ЗНЧ — 41,3%, в других группах его значение не превысило 15%.

Морфологическое исследование структурных изменений опухоли после СВЧ-воздействия разных режимов. Анализ гистологических препаратов опухоли через 24 ч после лечения показал, что однократное СВЧ-воздействие энергией 150 Дж вызывает серьезные нарушения структуры опухолевой ткани, такие как некроз, разрежение участков опухоли, конденсация

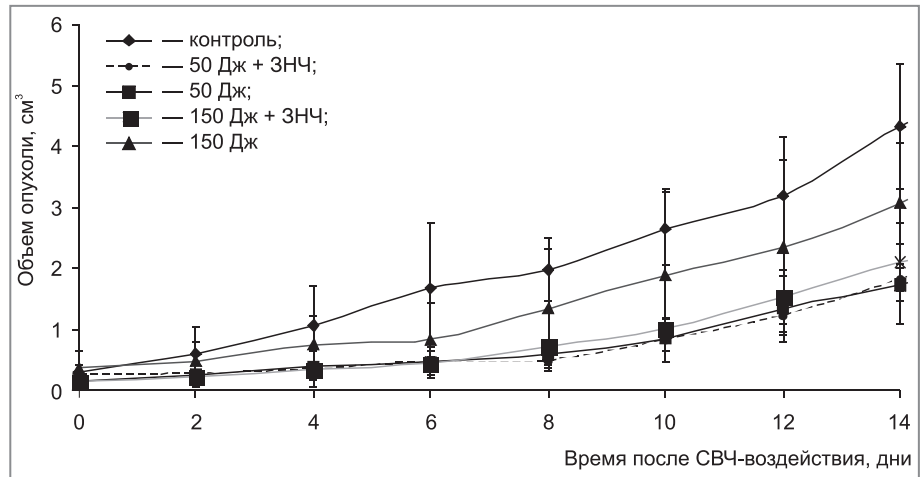


Рис. 1. Противоопухолевый эффект СВЧ-воздействия энергией 150 Дж (однократно) и 50 Дж (троекратно) с ЗНЧ и без них на опухоль РШМ-5. Указаны средние значения плюс/минус стандартное отклонение

хроматина в ядрах опухолевых клеток в этих участках, полнокровие сосудов. При сочетанном воздействии СВЧ-энергии 150 Дж и ЗНЧ в зонах с сохраненной плотной структурой опухоли наблюдались мелкие очаги некроза, опухолевые клетки с дистрофическими изменениями в виде внутриклеточного отека, вакуолизации цитоплазмы, просветления ядер. Зоны разрежения более обширны, чем без применения ЗНЧ, в них отмечаются кровоизлияния.

Однако троекратное СВЧ-воздействие энергией 50 Дж оказалось эффективнее, поскольку деструктивные изменения носили более выраженный характер. В толще узла обнаружены участки некроза, а также участки разрежения опухолевой ткани, обособление клеток друг от друга. Опухолевые клетки уменьшены в размерах, округлой формы с гиперхромными ядрами и оксифильной цитоплазмой. В зоне разрежения встречались расширенные полнокровные сосуды.

Использование ЗНЧ усилило эффект троекратного применения СВЧ-энергии 50 Дж. В опухолевых клетках зон с плотной структурой опухоли отмечены деструктивные изменения в виде вакуолизации цитоплазмы, внутриклеточного отека, иногда с разрывом

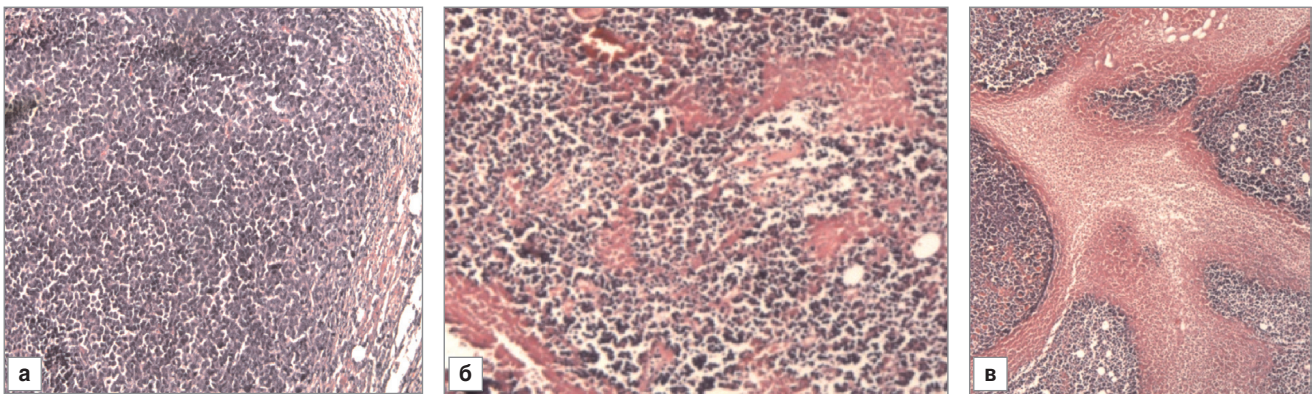


Рис. 2. Структурные изменения опухоли РШМ-5 на фоне СВЧ-воздействия с ЗНЧ разных режимов: а — область плотной жизнеспособной ткани, б — область разрежения, в — область некроза

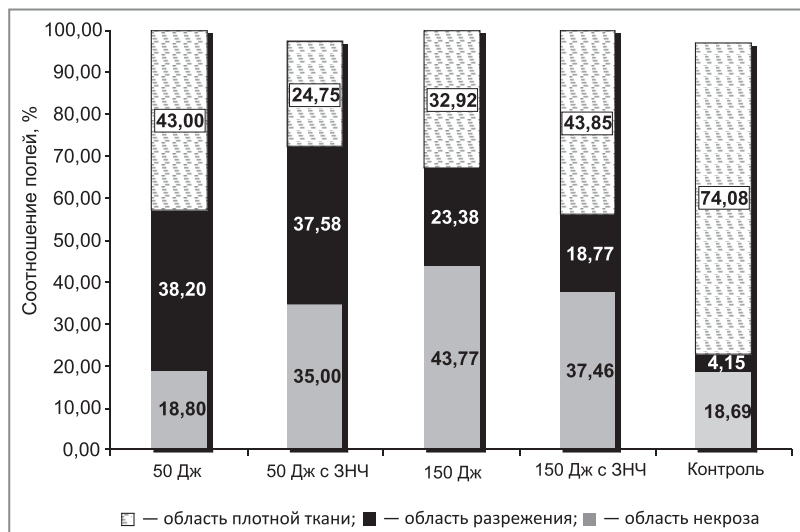


Рис. 3. Количественный анализ гистологических препаратов опухоли РШМ-5 после СВЧ-воздействия в разных режимах

клеточной оболочки, отеком ядер. Эти изменения заметно более выражены и затрагивают больший объем опухоли.

Для количественной оценки морфологических изменений опухоли условно были выделены три области — плотной ткани, разрежения и некроза (рис. 2). Исследовано 60 полей размером 100x100 мкм.

Численный анализ гистологических препаратов опухолей выявил изменения соотношений полей разрежения (уменьшение количества клеток на единицу площади), плотной ткани и некрозов (рис. 3). Опухоль контрольной группы состояла в основном из плотной жизнеспособной ткани. Воздействия СВЧ-энергией во всех режимах привели к значительному увеличению области разрежения и расширению области некроза. Отмечено также значительное уменьшение плотной жизнеспособной опухолевой ткани во всех группах по сравнению с контролем, но наименьший объем оказался в группе 50 Дж (втроекратно) с ЗНЧ (около 25%). Таким образом, гистологическое исследование показало, что реакция опухолевой ткани на СВЧ-воздействие носит выраженный характер при любом исследуемом воздействии, хотя при режиме 150 Дж в основном преобладает область некроза, а при режиме 50 Дж (втроекратно) — область разрежения. По сравнению с простой СВЧ-терапией, сочетанное действие энергии СВЧ и ЗНЧ приводит к уменьшению объема жизнеспособной ткани и увеличению полей некроза.

Заключение. Исследование влияния действия СВЧ-энергии 150 Дж (однократно) и 50 Дж (втроекратно) с использованием и без использования золотых наночастиц на экспериментальную опухолевую модель РШМ-5 подтвердило, что все апробированные режимы, независимо от применения золотых наночастиц, приводят к выраженным деструктивным изменениям опухолевой ткани. Однако по показателям торможения роста опухоли и увеличения продолжительности жизни режим 50 Дж (втроекратно) как с золотыми наночастицами, так и без них обладает наиболее высокой противоопухолевой активностью, хотя статистически значимых различий между этими группами не обнаружено.

В отличие от лазерной гипертермии, где золотые наночастицы благодаря плазмонному резонансу существенно повышают эффективность метода, при СВЧ-терапии эти частицы не оказывают заметного влияния на противоопухолевое действие. Не удалось подтвердить предположение о влиянии золотых наночастиц посредством усиления напряженности электромагнитного поля (при данных режимах и использованных концентрациях ЗНЧ).

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки (ГК 02.740.11.0713, 11Г.34.31.0017, 16.512.11.2053).

Литература

1. Осинский С.П. Гипертермия в клинической онкологии: современное состояние проблемы (по итогам ежегодной 20-й конференции Европейского общества гипертермической онкологии (ESHO)). Онкология 2002; 4(4): 288–292.
2. Hildebrandt B., Wust P., Ahlers O., et al. The cellular and molecular basis of hyperthermia. Critical Reviews in Oncology/Hematology 2002; 43(1): 33–56.
3. Wust P., Hildebrandt B., Sreenivasa G., Rau B., Gellermann J., Riess H., Felix R., Schlag P.M. Hyperthermia in combined treatment of cancer. The Lancet Oncology 2002; 3: 487–497.
4. Milleron R.S., Bratton S.B. “Heated” debates in apoptosis. Cell Mol Life Sci 2007; 64: 2329–2333.
5. Bleicher R.J., Allegra D.P., Nora D.T. Radiofrequency ablation in 447 complex unresectable liver tumors: lessons learned. Ann Surg Oncol 2003; 10: 52–58.
6. Khlebtsov B., Zharov V., Melnikov A., Tuchin V., Khlebtsov N. Optical amplification of photothermal therapy with gold nanoparticles and nanoclusters. Nanotechnology 2006; 17: 5167–5179.
7. Kim C.S., Wilder-Smith P., Ahn Y.-C., Liaw L.-H.L. Enhanced detection of early-stage oral cancer in vivo by optical coherence tomography using multimodal delivery of gold nanoparticles. Journal of Biomedical Optics 2009; 14: 034008.
8. Zaman R.T., Diagaradjane P., Krishnan S., Tunnell J.W. In vivo detection of gold nanoshells in tumors using diffuse optical spectroscopy. IEEE J Sel Top Quant Elec 2007; 13(6): 1715–1720.
9. Sirotkina M.A., Zagaynova E.V., Shirmanova M.V., Elagin V.V., Kirillin M., Agrba P., Kamensky V.A., Nadochenko V.A. Detection of nanoparticles accumulation in biological tissues by optical coherence tomography in vivo. In: Cartwright A.N., Nicolau D.V. (editors). Nanoscale imaging, sensing, and actuation for biomedical

applications VI. Proceeding of SPIE. Bellingham: SPIE 2009; 7188: 71880L-1–71880L-7.

10. Gobin A.M., Lee M.H., Halas N.J. Near-infrared resonant nanoshells for combined optical imaging and photothermal cancer. *Nano Letters* 2007; 7: 1929–1934.

11. Huang X., Jain P.K., El-Sayed I.H. Determination of the minimum temperature required for selective photothermal destruction of cancer cells using immunotargeted gold nanoparticles. *Photochem Photobiol* 2006; 82(2): 412–417.

12. O'Neal D.P., Hirsch L.R., Halas N.J. Photothermal tumor ablation in mice using near infrared absorbing nanoshells. *Cancer Lett* 2004; 209: 171–176.

13. Sirotkina M.A., Elagin V.V., Shirmanova M.V., Bugrova M.L., Snopova L.B., Kamensky V.A., Nadtochenko V.A., Denisov N.N., Zagaynova E.V. OCT-guided laser hyperthermia with passively tumor-targeted gold nanoparticles. *J of Biophotonics* 2010; 3(10–11): 718–727.

14. Сироткина М.А., Загайнова Е.В., Ширманова М.В., Елагин В.В., Бугрова М.Л., Жеглов А.В. Способ лечения опухолей лазерной гипертермией. Патент РФ № 2425701. 2011.

15. Gannon C.J., Patra C.R., Bhattacharya R., Mukherjee P., Curley S.A. Intracellular gold nanoparticles enhance non-invasive radiofrequency thermal destruction of human gastrointestinal cancer cells. *Journal of Nanobiotechnology* 2008; 6(2). doi:10.1186/1477-3155-6-2.

16. Cardinal J., Klune J.R., Chory E., Jeyabalan G., Kanzius J.S., Nalesnik M., Geller D.A. Non-invasive radiofrequency ablation of cancer targeted by gold nanoparticles. *Surgery* 2008; 144(2): 125–132.

17. Вончель Ц., Смирнова З.С., Кубасова И.Ю., Барышников А.Ю. Изучение противоопухолевой активности безаллергенного экстракта из RHUS VERNICIFLURA. Российский биотерапевтический журнал 2002; 1(4): 39–43.

References

1. Osinskiy S.P. *Onkologiya — Oncology* 2002; 4(4): 288–292.
2. Hildebrandt B., Wust P., Ahlers O., et al. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 2002; 43(1): 33–56.
3. Wust P., Hildebrandt B., Sreenivasa G., Rau B., Gellermann J., Riess H., Felix R., Schlag P.M. Hyperthermia in combined treatment of cancer. *The Lancet Oncology* 2002; 3: 487–497.
4. Milleron R.S., Bratton S.B. 'Heated' debates in apoptosis. *Cell Mol Life Sci* 2007; 64: 2329–2333.
5. Bleicher R.J., Allegra D.P., Nora D.T. Radiofrequency ablation in 447 complex unresectable liver tumors: lessons learned. *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 52–58.

6. Khlebtsov B., Zharov V., Melnikov A., Tuchin V., Khlebtsov N. Optical amplification of photothermal therapy with gold nanoparticles and nanoclusters. *Nanotechnology* 2006; 17: 5167–5179.

7. Kim C.S., Wilder-Smith P., Ahn Y.-C., Liaw L.-H.L. Enhanced detection of early-stage oral cancer in vivo by optical coherence tomography using multimodal delivery of gold nanoparticles. *Journal of Biomedical Optics* 2009; 14: 034008.

8. Zaman R.T., Diagaradjane P., Krishnan S., Tunnell J.W. In vivo detection of gold nanoshells in tumors using diffuse optical spectroscopy. *IEEE J Sel Top Quant Elec* 2007; 13(6): 1715–1720.

9. Sirotkina M.A., Zagaynova E.V., Shirmanova M.V., Elagin V.V., Kirillin M., Agrba P., Kamensky V.A., Nadtochenko V.A. Detection of nanoparticles accumulation in biological tissues by optical coherence tomography in vivo. In: Cartwright A.N., Nicolau D.V. (editors). *Nanoscale imaging, sensing, and actuation for biomedical applications VI*. Proceeding of SPIE. Bellingham: SPIE 2009; 7188: 71880L-1–71880L-7.

10. Gobin A.M., Lee M.H., Halas N.J. Near-Infrared Resonant Nanoshells for combined Optical imaging and photothermal cancer. *NanoLetters* 2007; 7: 1929–1934.

11. Huang X., Jain P.K., El-Sayed I.H. Determination of the minimum temperature required for selective photothermal destruction of cancer cells using immunotargeted gold nanoparticles. *Photochem Photobiol* 2006; 82(2): 412–417.

12. O'Neal D.P., Hirsch L.R., Halas N.J. Photothermal tumor ablation in mice using near infrared absorbing nanoshells. *Cancer Lett* 2004; 209: 171–176.

13. Sirotkina M.A., Elagin V.V., Shirmanova M.V., Bugrova M.L., Snopova L.B., Kamensky V.A., Nadtochenko V.A., Denisov N.N., Zagaynova E.V. OCT-guided laser hyperthermia with passively tumor-targeted gold nanoparticles. *J of Biophotonics* 2010; 3(10–11): 718–727.

14. Sirotkina M.A., Zagaynova E.V., Shirmanova M.V., Elagin V.V., Bugrova M.L., Zhiglov A.V. *Sposob lecheniya opukholey lazernoy gipertermiei* [The treatment modality of tumours by laser hyperthermia]. Patent RF № 2425701. 2011.

15. Gannon C.J., Patra C.R., Bhattacharya R., Mukherjee P., Curley S.A. Intracellular gold nanoparticles enhance non-invasive radiofrequency thermal destruction of human gastrointestinal cancer cells. *Journal of Nanobiotechnology* 2008; 6(2). doi:10.1186/1477-3155-6-2.

16. Cardinal J., Klune J.R., Chory E., Jeyabalan G., Kanzius J.S., Nalesnik M., Geller D.A. Non-invasive radiofrequency ablation of cancer targeted by gold nanoparticles. *Surgery* 2008; 144(2): 125–132.

17. Vonchel' Ts., Smirnova Z.S., Kubasova I.Yu., Baryshnikov A.Yu. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal — Russian Biotherapy Journal* 2002; 1(4): 39–43.