

© Коллектив авторов, 2019

УДК 616.24-006.6-033.2:615.277.3:612.014.482.4]-092.9

**Филимонова М.В., Макаrchук В.М., Шевченко Л.И., Филимонов А.С.**

## Исследование влияния ингибитора NOS T1023 в сочетании с $\gamma$ -излучением и циклофосфамидом на рост и метастазирование карциномы лёгких льюис

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба — филиал ФГБУ НМИЦ радиологии Минздрава России, 249036, Калужская область, Россия, г. Обнинск, ул. Королева, д. 4

**Цель работы** – изучение антинеопластических эффектов при комбинированном воздействии ингибитора NOS T1023 с  $\gamma$ -излучением и циклофосфамидом. **Методика.** В работе использован штамм эпидермоидной карциномы легких Льюиса. Выполнено 2 независимых эксперимента: в одном изучали антинеопластические эффекты при раздельном и комбинированном воздействии T1023 и  $\gamma$ -излучения, в другом – при раздельном и комбинированном воздействии T1023 и циклофосфамида. Особая 1-й опытной группы в обоих экспериментах с 7-х по 20-е сут роста карциномы ежедневно вводили соединение T1023 в дозе 60 мг/кг внутривнутрибрюшинно. В первом эксперименте животные 2-й опытной группы на 7-е сут роста неоплазии получали сеанс облучения (доза 5 Гр). Во втором эксперименте животным этой группы на 7-е сут роста неоплазии вводили однократно внутривнутрибрюшинно циклофосфамид в дозе 100 мг/кг в виде 1,0% раствора фармакопейного препарата на основе 0,9% раствора натрия хлорида. Животным 3-й опытной группы в обоих экспериментах проводили соответствующие комбинированные воздействия по этим же схемам и в таких же дозах. Первое введение T1023 на 7-е сут роста карциномы этим животным проводили через 4 ч после облучения или введения циклофосфамида. Влияние на рост опухоли оценивали по межгрупповым различиям объемов опухолевых узлов, длительности задержки роста и индексу торможения роста опухоли. Влияние на активность метастазирования карциномы оценивали по межгрупповым различиям числа легочных метастазов на 21-е сут роста опухоли и индексу ингибирования метастазирования. Статистическую оценку значимости межгрупповых различий количественных показателей проводили с помощью дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса с применением Q-критерия Данна. **Результаты.** Показано, что воздействие T1023, как в комбинации с  $\gamma$ -излучением, так и в комбинации с циклофосфамидом, сопровождается статистически значимым подавлением роста и метастазирования карциномы легких Льюиса. При этом антинеопластические эффекты обоих комбинированных воздействий соответствовали аддитивному противоопухолевому и антиметастатическому действию ингибитора NOS,  $\gamma$ -излучения и циклофосфамида. **Заключение.** Полученные результаты отражают способность ингибиторов NOS повышать эффективность радио- и химиотерапии злокачественных новообразований, что свидетельствует о перспективности дальнейшей разработки препаратов типа соединения T1023.

**Ключевые слова:** производные изотиомочевины; ингибиторы NOS,  $\gamma$ -излучение; циклофосфамид, противоопухолевое действие.

**Для цитирования:** Филимонова М.В., Макаrchук В.М., Шевченко Л.И., Филимонов А.С. Исследование влияния ингибитора NOS T1023 в сочетании с  $\gamma$ -излучением и циклофосфамидом на рост и метастазирование карциномы легких Льюиса.

*Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2019; 63(3): 105-109.

**DOI:** 10.25557/0031-2991.2019.03.105-109

**Для корреспонденции:** *Филимонова Марина Владимировна*, доктор биол. наук, зав. лабораторией радиационной фармакологии, e-mail: mari\_fil@mail.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила** 28.12.2017

**Filimonova M.V., Makarchuk V.M., Shevchenko L.I., Filimonov A.S.**

## EFFECT OF A NOS INHIBITOR, T1023, IN COMBINATION WITH $\gamma$ -IRRADIATION AND CYCLOPHOSPHAMIDE ON GROWTH AND METASTASIS OF LEWIS LUNG CARCINOMA

A.F. Tsyb Medical Radiological Research Center, Branch of the National Medical Research Radiological Center, Koroleva Str. 4, Obninsk 249036, Kaluga Region, Russia

**The aim** was to study antineoplastic effects of a NOS inhibitor, T1023, in combination with  $\gamma$ -irradiation and cyclophosphamide.

**Methods.** Epidermoid Lewis lung carcinoma (LLC) was used as a tumor model. Two independent experiments were performed. In the first experiment, antitumor effects of T1023 and  $\gamma$ -irradiation were studied individually and combined. In the second experiment,

antitumor effects of T1023 and cyclophosphamide were studied individually and combined. In both experiments, mice from the first experimental group were daily injected with T1023 60 mg/kg from day 7 to 20. In the first experiment, animals of the second group were treated with  $\gamma$ -irradiation at 5 Gy on day 7 of tumor growth. In the second experiment, mice of the second group were injected with cyclophosphamide 100 mg/kg on day 7 of tumor growth. In both experiments, mice of the third group received a respective combined treatment according to the protocols described above. The first injection of T1023 was performed on day 7 after tumor transplantation at 4 hours after the irradiation or cyclophosphamide treatment. Antitumor effects were assessed by comparing the tumor size, duration of tumor growth delay, and the index of tumor growth inhibition in control and experimental groups. The effect of treatments on metastatic activity of carcinoma was evaluated by the intergroup difference in number of pulmonary metastases inhibition index on day 21 of tumor growth. Statistical significance was determined using the Kruskal-Wallis dispersion analysis with the Dunn Q-test. **Results** of the study showed that the T1023 treatment both in combination with  $\gamma$ -irradiation and with cyclophosphamide was associated with a significantly greater inhibition of tumor growth and metastasis. The antineoplastic effect of both combinations was consistent with the additive antitumor and antimetastatic effect of the NOS inhibitor,  $\gamma$ -radiation, and cyclophosphamide. **Conclusion.** The study showed the ability of NOS inhibitors to enhance the effectiveness of radio- and chemotherapy for malignant tumors and suggested a promising outlook for further development of T1023.

**Keywords:** isothioureia derivatives; NOS inhibitors,  $\gamma$ -radiation; cyclophosphamide, antitumor effect.

**For citation:** Filimonova M.V., Makarchuk V.M., Shevchenko L.I., Filimonov A.S. Effects of the NOS inhibitor T1023 in the combination with  $\gamma$ -irradiation and cyclophosphamide on the growth and metastasis of Lewis lung carcinoma. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2019; 63(3): 105-109. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2019.03.105-109

**For correspondence:** Marina V. Filimonova, Doctor of Biological Science, Head of Laboratory of Radiation Pharmacology of A.Tsyb Medical Radiological Research Center – branch of FSBI NMRRС of the Ministry of Health of Russia; 4, Korolev st., Obninsk, Kaluga region, 249036, Russian Federation, e-mail: mari\_fil@mail.ru

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

**Information about authors:**

Filimonova M. V., <https://orcid.org/0000-0002-9690-4746>

Makarchuk V.M., <https://orcid.org/0000-0001-6066-1415>

Filimonov A.S., <https://orcid.org/0000-0002-4398-1764>

**Received** 28.12.2017

## Ведение

Ранее нами показано, что гидробромид 1-изобутаноил-2-изопропилизотиомочевин (далее, соединение T1023), являющийся эффективным ингибитором eNOS и iNOS, при субхроническом введении в дозе 60 мг/кг ( $\sim 1/4$  ЛД<sub>50</sub>) вызывает значительное (на 45-75%) торможение роста и подавление (на 40-80%) метастазирования карциномы легких Льюис (КЛЛ), которые развиваются вследствие нарушений неопластической васкуляризации [1]. Цель исследования – изучение влияния T1023 в сочетании с  $\gamma$ -излучением и циклофосфамидом на развитие и метастазирование КЛЛ. Оценка перспективности дальнейшей разработки соединения T1023.

## Методика

Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2004) и письменного добровольного информированного согласия всех пациентов. Работа одобрена этическим комитетом Ме-

дицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба.

Эксперименты выполнены на 120 самцах мышей F<sub>1</sub> (СВА $\times$ C<sub>57</sub>BL<sub>6j</sub>) в возрасте 8–10 нед массой 20–23 г из питомника ФГБУН НЦБМТ ФМБА России. Мышей содержали в виварии МРНЦ в клетках Т-3 на древесно-стружечном подстиле при естественном освещении и 10-кратной вентиляции воздуха, температуре 18–20 °С и относительной влажности 40–70%, со свободным доступом к корму ПК-120-1 и питьевой воде.

Штамм эпидермоидной КЛЛ получен из ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина. Трансплантировали КЛЛ в область латеральной поверхности правого бедра мышей подкожно введением  $1,5 \times 10^6$  клеток карциномы в 0,1 мл суспензии на основе среды 199 (ООО Пан-Эко, РФ).

Выполнено 2 серии независимых экспериментов. В I (n=60) серии изучали антинеопластические эффекты при отдельном и комбинированном воздействии T1023 и  $\gamma$ -излучения, во II серии (n=60) – при отдельном и комбинированном воздействии T1023 и цикло-

фосфамида. Мышей ( $n=60$ ) для исследования брали на 7-е сут после перевивки КЛЛ, когда опухолевые узлы у всех особей имели объем 100-150 мм<sup>3</sup>. В каждой серии животные были распределены в 4 экспериментальные группы — контрольную и 3 опытные, по 15 мышей в каждой.

Животные контрольных групп в дальнейшем не получали каких-либо воздействий. Особям 1-й опытной группы в обеих сериях с 7-х по 20-е сут роста КЛЛ вводили ежедневно внутривенно соединение Т1023 (60 мг/кг) в виде 0,6% раствора на основе 0,9% раствора натрия хлорида (ОАО Дальхимфарм, РФ).

В I серии опухоли животных 2-й опытной группы на 7-е сут роста облучали на установке Луч-1 с источником <sup>60</sup>Со при мощности дозы 80 мГр/с ( $\gamma$ -излучение 5 Гр). В поле облучения выводили конечность с привитой КЛЛ, тело экранировали свинцовыми пластинами. Во II серии животным этой группы на 7-е сут роста неоплазии вводили однократно в/б циклофосфамид в дозе 100 мг/кг в виде 1,0% раствора фармакопейного препарата (циклофосфан; ОАО Биохимик, РФ) на основе 0,9% раствора натрия хлорида.

Животным 3-й опытной группы в обеих сериях проводили соответствующие комбинированные воздействия по тем же схемам и в тех же дозах. Первое введение Т1023 на 7-е сут роста КЛЛ этим животным проводили через 4 ч после облучения или введения циклофосфамида.

Влияние воздействий на рост КЛЛ оценивали по межгрупповым различиям объемов опухолевых узлов, длительности задержки роста и индексу торможения роста опухоли (ТРО) [2]. Влияние экспериментальных воздействий на активность метастазирования карциномы оценивали по межгрупповым различиям числа легочных метастазов на 21-е сут роста КЛЛ и индексу ингибирования метастазирования (ИИМ) [2]. Оценку объема опухолевых узлов на различных сроках наблюдения и подсчет числа легочных метастазов проводили по методикам [1]. Статистическую оценку значимости межгрупповых различий количественных показателей проводили с помощью дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса с применением Q-критерия Данна.

## Результаты и обсуждение

Результаты анализа динамики роста и активности метастазирования КЛЛ в I серии показали, что все использованные варианты экспериментальных воздействий обнаруживали статистически значимые антинеопластические эффекты (табл. 1, 2).

В то же время, выраженность этих эффектов в опытных группах животных существенно различалась. У мы-

шей, получавших отдельные воздействия  $\gamma$ -излучения и соединения Т1023, наблюдался статистически равный противоопухолевый эффект. В обеих группах в течение 5-6 сут после облучения и начала применения Т1023 развивалась задержка роста КЛЛ на 2-2,2 сут, и в дальнейшем до конца опыта сохранялось умеренное торможение роста неоплазии — величина ТРО составляла 30-35%. Сходным, статистически равным был и антиметастатический эффект при отдельном воздействии  $\gamma$ -излучения и Т1023. В обоих случаях наблюдалось статистически значимое подавление процессов метастазирования и роста легочных метастазов карциномы — величина ИИМ составляла 45—60%.

В группе животных, получавших комбинированное воздействие  $\gamma$ -излучения и соединения Т1023, наблюдалось выраженное, статистически значимое возрастание как противоопухолевого, так и антиметастатического эффектов. В этом случае задержка роста опухоли увеличилась до 4,2-4,4 сут, и в дальнейшем до конца опыта сохранялось выраженное торможение роста неоплазии — величина ТРО составляла 50-55%. Выращенно возрастало при этом и антиметастатическое действие — величина ИИМ превышала 70%.

При этом количественный анализ полученных в этом эксперименте данных свидетельствовал, что наблюдаемые антинеопластические эффекты в группе мышей, получавших комбинированное воздействие, статистически соответствовали уровню аддитивного, независимого противоопухолевого и антиметастатического действия  $\gamma$ -излучения и Т1023.

Аналогичная картина прослеживалась и во II серии экспериментов. В этом случае также все использованные варианты экспериментальных воздействий вызывали статистически значимые антинеопластические эффекты, выраженность которых в опытных группах животных существенно различалась (табл. 3, 4).

У мышей, получавших отдельные воздействия циклофосфамида и соединения Т1023, также наблюдался близкий, статистически равный противоопухолевый эффект. После начала применения Т1023 развивалась задержка роста КЛЛ на 2,7—2,9 сут, и в дальнейшем сохранялось умеренное торможение роста неоплазии — величина ТРО составляла 35-45%. После воздействия циклофосфамида задержка роста КЛЛ была более выраженной (на 5,3-5,5 сут) и в дальнейшем наблюдалось значительное торможение роста опухоли — величина ТРО составляла 50-65%. Статистически равным в этих группах было и антиметастатическое действие. В обоих случаях наблюдалось значительное, статистически значимое подавление процессов метастазирования и роста легочных метастазов — величина ИИМ составляла 73—77%.

Таблица 1

**Влияние T1023 и  $\gamma$ -излучения при раздельном и комбинированном применении на динамику роста карциномы легких Льюис**

Время роста КЛЛ, сутки	Средний относительный объем опухоли (V), отн. ед. (M $\pm$ SD); TPO, %								
	Контроль V	T1023		$\gamma$ -излучение		$\gamma$ -излучение + T1023		Аддитивный эффект (расчет)	
		V	TPO	V	TPO	V	TPO	V	TPO
7	1,0	1,0	0	1,0	0	1,0	0	1,0	0
10	3,4 $\pm$ 1,2	2,8 $\pm$ 0,9	18	3,3 $\pm$ 0,9	3	2,2 $\pm$ 0,6	35	2,7 $\pm$ 1,3	21
14	11,3 $\pm$ 2,7	7,4 $\pm$ 1,7 <sup>1</sup>	35	8,1 $\pm$ 1,9 <sup>1</sup>	28	5,3 $\pm$ 1,3 <sup>123</sup>	53	5,3 $\pm$ 2,6	53
17	19,0 $\pm$ 4,8	13,3 $\pm$ 2,9 <sup>1</sup>	30	13,2 $\pm$ 2,7 <sup>1</sup>	31	9,6 $\pm$ 2,0 <sup>123</sup>	49	9,2 $\pm$ 4,2	52
21	37,4 $\pm$ 8,2	26,1 $\pm$ 6,1 <sup>1</sup>	30	25,0 $\pm$ 5,6 <sup>1</sup>	33	16,7 $\pm$ 4,2 <sup>123</sup>	55	17,4 $\pm$ 8,3	53

**Примечания.** Здесь и в табл. 2 – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) по критерию Данна: <sup>1</sup> – с контрольной группой; <sup>2</sup> – с группой, получавшей только воздействие T1023; <sup>3</sup> – с группой, получавшей только воздействие  $\gamma$ -излучения (в группах  $n = 15$ ).

Таблица 2

**Влияние T1023 и  $\gamma$ -излучения при раздельном и комбинированном применении на метастазирование карциномы легких Льюис**

Показатель	Среднее число легочных метастазов на 21-е сут роста (M $\pm$ SD); ИИМ, %				
	Контроль	T1023	$\gamma$ -излучение	$\gamma$ -излучение + T1023	Аддитивный эффект (расчет)
Крупные метастазы	9,5 $\pm$ 3,2	4,2 $\pm$ 3,4 <sup>1</sup>	1,4 $\pm$ 1,1 <sup>1</sup>	1,1 $\pm$ 1,0 <sup>1</sup>	0,6 $\pm$ 3,6
Малые метастазы	23,1 $\pm$ 5,6	13,3 $\pm$ 4,9 <sup>1</sup>	11,8 $\pm$ 4,8 <sup>1</sup>	7,7 $\pm$ 4,5 <sup>12</sup>	6,8 $\pm$ 6,9
Все метастазы	32,6 $\pm$ 7,1	17,5 $\pm$ 7,1 <sup>1</sup>	13,2 $\pm$ 5,7 <sup>1</sup>	8,8 $\pm$ 5,1 <sup>12</sup>	7,1 $\pm$ 9,1
ИИМ		46	60	73	77

Таблица 3

**Влияние T1023 и циклофосфида при раздельном и комбинированном применении на динамику роста карциномы легких Льюис**

Время роста КЛЛ, сутки	Средний относительный объем опухоли (V), отн. ед. (M $\pm$ SD); TPO, %								
	Контроль V	T1023		Циклофосфамид		Циклофосфамид + T1023		Аддитивный эффект (расчет)	
		V	TPO	V	TPO	V	TPO	V	TPO
7	1,0	1,0	0	1,0	0	1,0	0	1,0	0
10	9,6 $\pm$ 3,5	5,4 $\pm$ 2,4 <sup>1</sup>	44	3,2 $\pm$ 1,3 <sup>1</sup>	67	1,8 $\pm$ 0,9 <sup>12</sup>	81	1,8 $\pm$ 2,7	81
14	18,3 $\pm$ 6,1	11,6 $\pm$ 5,1 <sup>1</sup>	37	6,6 $\pm$ 2,6 <sup>1</sup>	64	4,5 $\pm$ 1,7 <sup>12</sup>	75	4,2 $\pm$ 5,7	77
17	34,1 $\pm$ 11,8	19,2 $\pm$ 8,1 <sup>1</sup>	44	13,2 $\pm$ 3,8 <sup>1</sup>	61	8,2 $\pm$ 3,3 <sup>123</sup>	76	7,4 $\pm$ 8,9	78
21	41,2 $\pm$ 12,4	26,7 $\pm$ 9,0 <sup>1</sup>	35	19,7 $\pm$ 5,7 <sup>1</sup>	52	12,3 $\pm$ 5,1 <sup>123</sup>	70	12,8 $\pm$ 10,7	69

**Примечания.** Здесь и в табл. 4 – статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) по критерию Данна: <sup>1</sup> – с контрольной группой; <sup>2</sup> – с группой, получавшей только воздействие T1023; <sup>3</sup> – с группой, получавшей только воздействие циклофосфида (в группах  $n = 15$ ).

Таблица 4

**Влияние T1023 и циклофосфида при раздельном и комбинированном применении на метастазирование карциномы легких Льюис**

Показатель	Среднее число легочных метастазов на 21-е сут роста (M $\pm$ SD); ИИМ, %				
	Контроль	T1023	Циклофосфамид	Циклофосфамид + T1023	Аддитивный эффект (расчет)
Крупные метастазы	3,8 $\pm$ 0,9	0,9 $\pm$ 0,4 <sup>1</sup>	0,6 $\pm$ 0,3 <sup>1</sup>	0,1 $\pm$ 0,1 <sup>123</sup>	0,1 $\pm$ 0,5
Малые метастазы	20,1 $\pm$ 2,6	4,5 $\pm$ 0,6 <sup>1</sup>	5,8 $\pm$ 0,8 <sup>1</sup>	1,9 $\pm$ 0,5 <sup>123</sup>	1,3 $\pm$ 1,0
Все метастазы	23,9 $\pm$ 2,8	5,4 $\pm$ 0,7 <sup>1</sup>	6,4 $\pm$ 0,8 <sup>1</sup>	2,0 $\pm$ 0,5 <sup>123</sup>	1,4 $\pm$ 1,1
ИИМ		77	73	92	94

В группе животных, получавших комбинированное воздействие, наблюдалось статистически значимое возрастание антинеопластических эффектов. На фоне комбинированного воздействия циклофосфида и T1023 задержка роста опухоли увеличилась до 8,1-8,3 сут и в дальнейшем сохранялось выраженное торможение роста КЛЛ – величина ТРО составляла 70-80%. При этом неоплазия метастазировала крайне слабо, и практически полностью подавлялся рост легочных метастазов – величина ИИМ превышала 90%.

Как и в первом опыте, количественный анализ полученных данных свидетельствовал, что антинеопластические эффекты при комбинированном воздействии статистически соответствовали уровню аддитивного противоопухолевого и антиметастатического действия циклофосфида и соединения T1023.

В целом, усиление противоопухолевых эффектов при комбинированном применении соединения T1023 в сочетании с  $\gamma$ -излучением и циклофосфамидом, в целом, согласуется с результатами работ, в которых показана способность некоторых известных ингибиторов NOS (L-NNA, L-NAME, L-NIL, аминоганидин) повышать эффективность лучевой, химио- и фотодинамической терапии экспериментальных неоплазий [3-7]. При этом отчетливый аддитивный характер фармакодинамического взаимодействия T1023 с  $\gamma$ -излучением и циклофосфамидом в противоопухолевом и антиметастатическом действии, вероятно, является отражением различия механизмов и независимости реализации этих эффектов при воздействии этих факторов.

Наблюдаемая в экспериментах выраженность антинеопластической активности ингибитора NOS T1023 и позитивный характер его фармакодинамического взаимодействия с ионизирующими излучениями и цитостатическими средствами свидетельствуют о целесообразности дальнейшей разработки этого соединения в качестве противоопухолевого средства.

### Литература

1. Филимонова М.В., Южаков В.В., Шевченко Л.И., Бандурко Л.Н., Севанькаева Л.Е., Макачук В.М. и др. Экспериментальное исследование противоопухолевой активности нового ингибитора синтеза оксида азота T1023. *Молек. медицина*. 2015; (1): 61-4.

### Сведения об авторах:

**Филимонова Марина Владимировна**, зав. лаб. радиационной фармакологии, доктор биол. наук;  
**Макачук Виктория Михайловна**, ст. науч. сотр. лаб. радиационной фармакологии, канд. биол. наук;  
**Шевченко Людмила Ивановна**, вед. науч. сотр. лаб. радиационной фармакологии, канд. химич. наук;  
**Филимонов Александр Сергеевич**, науч. сотр. лаб. радиационной фармакологии.

2. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Часть первая. М.; Гриф и К, 2012.
3. Cardnell R.J., Mikkelsen R.B. Nitric oxide synthase inhibition enhances the antitumor effect of radiation in treatment of squamous carcinoma xenografts. *PLoS One*. 2011; 6(5): e20147.
4. Ridnour L.A., Cheng R.Y., Weiss J.M., Soto Pantoja D.R., Basudhar D., Heinecke J.L. et al. NOS inhibition modulates immune polarization and improves radiation-induced tumor growth delay. *Cancer Res*. 2015; 75(14): 2788-99.
5. Sikora A.G., Gelbard A., Davies M.A., Sano D., Ekmekcioglu S., Kwon J. et al. Targeted inhibition of inducible nitric oxide synthase inhibits growth of human melanoma in vivo and synergizes with chemotherapy. *Clin. Cancer Res*. 2010; 16(6): 1834-44.
6. Sinha B.K., Kumar A., Bhattacharjee S., Espey M.G., Mason R.P. Effect of nitric oxide on the anticancer activity of the topoisomerase-active drugs and adriamycin in human melanoma cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 2013; 347(3): 607-14.
7. Girotti A.W., Fahey J.M., Korytowski W. Multiple means by which nitric oxide can antagonize photodynamic therapy. *Curr. Med. Chem*. 2016; 23(24): 2754-69.

### References

1. Filimonova M.V., Yuzhakov V.V., Shevchenko L.I., Bandurko L.N., Sevankaeva L.E., Makarchuk V.M. et al. Experimental study of antitumor activity of new nitric oxide synthase inhibitor T1023. *Molekulyarnaya meditsina*. 2015; 1: 61-4. (in Russian)
2. *A guide to preclinical drug research. Part one [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. Chast' pervaya]*. Moscow; Griff I K; 2012. (in Russian)
3. Cardnell R.J., Mikkelsen R.B. Nitric oxide synthase inhibition enhances the antitumor effect of radiation in treatment of squamous carcinoma xenografts. *PLoS One*. 2011; 6(5): e20147.
4. Ridnour L.A., Cheng R.Y., Weiss J.M., Soto Pantoja D.R., Basudhar D., Heinecke J.L. et al. NOS inhibition modulates immune polarization and improves radiation-induced tumor growth delay. *Cancer Res*. 2015; 75(14): 2788-99.
5. Sikora A.G., Gelbard A., Davies M.A., Sano D., Ekmekcioglu S., Kwon J. et al. Targeted inhibition of inducible nitric oxide synthase inhibits growth of human melanoma in vivo and synergizes with chemotherapy. *Clin. Cancer Res*. 2010; 16(6): 1834-44.
6. Sinha B.K., Kumar A., Bhattacharjee S., Espey M.G., Mason R.P. Effect of nitric oxide on the anticancer activity of the topoisomerase-active drugs and adriamycin in human melanoma cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 2013; 347(3): 607-14.
7. Girotti A.W., Fahey J.M., Korytowski W. Multiple means by which nitric oxide can antagonize photodynamic therapy. *Curr. Med. Chem*. 2016; 23(24): 2754-69.