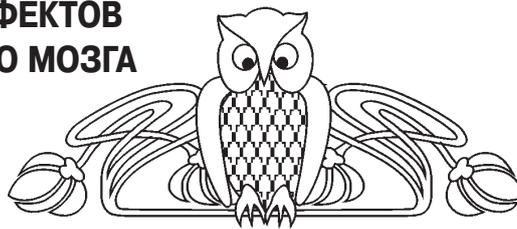




УДК 612.82:616-073

ОПТИМИЗАЦИЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ СОСУДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА

О. В. Семякина-Глушковская, А. А. Широков, Н. А. Наволокин,
А. В. Терсков, А. А. Бодрова, Н. А. Шушунова, А. П. Хороводов,
М. В. Уланова, И. М. Агранович, Т. Д. Искра, А. Т. Мамедова



Семякина-Глушковская Оксана Валерьевна, доктор биологических наук, заведующий кафедрой физиологии человека и животных, доцент, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, glushkovskaya@mail.ru

Широков Александр Александрович, кандидат биологических наук, Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, Саратов, shirokov_a@ibppm.ru

Наволокин Никита Александрович, аспирант, ассистент кафедры патологической анатомии, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, nik-navolokin@yandex.ru

Терсков Андрей Витальевич, магистрант кафедры физиологии человека и животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, terskow.andrey@gmail.com

Бодрова Анастасия Алексеевна, магистрант кафедры физиологии человека и животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, nastya1535@mail.ru

Шушунова Наталия Александровна, магистрант кафедры физиологии человека и животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, shushunovan.a@gmail.com

Хороводов Александр Петрович, магистрант кафедры физиологии человека и животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, khorovodov2012@yandex.ru

Уланова Мария Васильевна, магистрант кафедры физиологии человека и животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, maru-ulanova@mail.ru

Агранович Илана Михайловна, аспирант кафедры физиологии человека и животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, ilana.agranovich@yandex.ru

Искра Татьяна Дмитриевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии человека и животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, tata-isk@yandex.ru

Мамедова Айсель Тофик кызы, магистрант кафедры физиологии человека и животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, Междисциплинарный центр критических технологий в медицине, mamedovaysel95@gmail.com

В экспериментах на здоровых мышцах было установлено, что фотодинамическое воздействие (ФЗ) (635 нм с 5-аминолевулиновой кислотой – 5-АЛА) вызывает временное повышение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) к высокомолекулярным соединениям. Используя различные дозы лазерного излучения (635 нм, 10–40 Дж/см²) и концентрации фотосенсибилизатора 5-АЛА (20 и 80 мг/кг, *iv*) было установлено, что доза ФЗ (15 Дж/см²) является оптимальной для открытия ГЭБ без серьезных нарушений тканей и сосудов мозга. Дозы ФЗ (20–40 Дж/см²) не приводят к более выраженному повышению проницаемости ГЭБ, однако сопровождаются развитием сильного вазогенного отека и изменением формы сосудов. Полученные результаты являются важной информативной платформой для новых стратегий в развитии доставки лекарственных средств в мозг, а также для получения принципиально новых знаний о ФЗ эффектах на ткани и сосуды мозга.

Ключевые слова: фотодинамическое воздействие, гематоэнцефалический барьер, лазеры, проницаемость эндотелия.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-4-423-428>

Введение

Гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) представляет собой комплекс белков, расположенный на эндотелиацитах микрососудов мозга, который контролирует движение различных веществ из крови в мозг и в обратном направлении, предохраняя центральную нервную систему (ЦНС) от попадания токсинов, вирусов и бактерий [1]. Однако эти защитные механизмы ограничивают прохождение многих лекарств в мозг. Известно, что среди 7 тыс. существующих препаратов только 5% применяются для лечения заболеваний ЦНС [2]. В связи с этим поиск методов преодоления ГЭБ представляет собой актуальную задачу для медицины.

Фотодинамическое воздействие (ФЗ) представляет собой комбинированное влияние лазера



и фотосенсибилизатора (порфирины, хлорины и др.) [3]. ФЗ широко применяется в клинической практике, в частности для хирургической навигации опухолей мозга [4, 5]. Связано это с тем, что фотосенсибилизатор избирательно накапливается в опухоли, и при лазерном воздействии он образует активную форму синглетного кислорода. Это сопровождается «подсветкой» опухоли в ультрафиолетовых лучах, что дает возможность хирургу видеть границы опухоли. Кроме того, синглетный кислород оказывает цитотоксическое действие, повреждая сосуды опухоли и вызывая апоптоз [6, 7].

Недавно в исследованиях было показано, что ФЗ может временно увеличивать проницаемость ГЭБ. Хиршберг с соавт., используя стереотаксическую установку и ФЗ (635 нм) у здоровых крыс, зарегистрировали увеличение проницаемости ГЭБ к низкомолекулярному гадолинию [8]. Мэдсен с соавт. применяли лазерное воздействие (670 нм) через интактный череп с фотосенсибилизатором алюминиевым фталоцианином ($AlPcS_{2a}$) для транспортировки макрофагов через ГЭБ [9].

Однако в указанных работах применялись высокие дозы ФЗ и не изучались последствия ФЗ на ткани и сосуды мозга. Для оптимизации ФЗ применения в отношении проницаемости ГЭБ была поставлена задача изучить дозозависимые эффекты ФЗ, включая разные дозы лазера и фотосенсибилизатора, на состояние сосудов и тканей мозга.

Материалы и методы

Эксперименты были выполнены на белых мышцах весом 20 г ($n = 70$) в следующих группах: 1) интактные, без ФЗ (контрольная группа); после ФЗ (Дж/см²): 2) 10; 3) 15; 4) 20; 5) 40 соответственно.

Все процедуры были выполнены в соответствии с протоколом, одобренным Комитетом по уходу и использованию лабораторных животных в Саратовском государственном университете (протокол Н-147, 07.02.2018).

Фотодинамическое воздействие проводили под общей газовой анестезией (2% изофлуран, 1л/мин $N_2O/O_2 - 70:30$) с применением лазера (635 нм, XPeBRD L1 0000 00901, CREE, Inc. США, Дарем) и фотосенсибилизатора 5-аминолевулиновая кислота (5-АЛА, 20 мг/кг, iv). В одной группе с ФЗ (15 Дж/см²) применяли фотосенсибилизатор 5-АЛА в высокой дозе 80 мг/кг (iv). Через 30 мин после инъекции мышей фиксировали на стереотаксической установке и с помощью хирургической дрели (Mikroton, Aescular, Турция, Стамбул) открывали черепную коробку (2 × 2 мм). После

чего на открытую область мозга воздействовали лазером с различными дозами излучения. Эффект от лазерного воздействия на ткани мозга контролировали термпарой (Pico USB TC-08, Великобритания, Сейнт Неотс). Температура не превышала 2–3°C от уровня температуры кожи мыши (28°C) для самой высокой дозы облучения.

Для оценки проницаемости ГЭБ к высокомолекулярным соединениям, таким как *Evans Blue* (Sigma Chemical Co., St. Louis, MI, USA), применяли спектрофлуориметрический метод. Краситель *Evans Blue* (2 мг/25 мг мыши, 1%-й раствор) вводили в правую бедренную вену. Через 30 мин циркуляции красителя мышей декапитуировали и извлекали мозг, который немедленно помещали на лед. Анализ концентрации *Evans Blue* был выполнен в группах 1 – 5, $n = 7$ для каждой группы.

Конфокальная микроскопия применялась как дополнительный метод для оценки проницаемости ГЭБ [10]. Для этого использовали внутривенное введение FITC-декстрана 70 кДа (Sigma Chemical Co., St. Louis, MI, USA 4 мг/25 г, 0.5% раствор). FITC-декстран циркулировал в крови в течение 2 мин, после чего мышей декапитуировали, мозг немедленно извлекали и помещали для фиксации в 4% параформальдегид на сутки. Срезы мозга (50 мкм) получали на вибротоме (Leica Микросистема 1000-X VT, Германия). Делали 8–12 срезов с одного мозга для анализа на конфокальном микроскопе (Olympus FV10i-W, Олимп, Япония) в группах 1 – 5, $n = 7$ для каждой группы. Для качественной оценки проницаемости ГЭБ использовали маркер на астроциты ГЭБ глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP).

Гистологический метод применяли для оценки состояния тканей мозга и сосудов. Для окрашивания срезов мозговой ткани применялись гистологические красители: гематоксилин и эозин. Толщина срезов не превышала 4–5 мкм. Образцы оценивали с помощью световой микроскопии с использованием микроскопа Mikrovizor medical mVizo-103 (ЛОМО, Россия).

Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. Различия в одной группе были оценены программой Wilcoxon test. Межгрупповые различия оценивались с использованием программ Mann-Whitney test и ANOVA-2. Различия считались достоверными при критерии $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

На первом этапе исследований оценивали проницаемость ГЭБ к белковому комплексу *Evans Blue*.



Результаты представлены в таблице. Были установлены дозозависимые изменения в ГЭБ через 1 ч после ФЗ. Минимальная доза ФЗ 10 Дж/см² вызывала повышение проницаемости ГЭБ к *Evans Blue* в 20,6 раз ($p < 0.001$); 15 Дж/см² – в 46,75 раз ($p < 0.001$); 20 Дж/см² – в 46,04 раз ($p < 0.001$); 30 Дж/см² – в 46,07 раз ($p < 0.001$).

Эффект фотодинамического воздействия на проницаемость ГЭБ для альбуминового комплекса *Evans Blue* ($n = 7$)

Доза лазера, Дж/см ² , мВт, с	Концентрация <i>Evans Blue</i> в мозге, мг/г ткани
До облучения (контрольная группа)	0.41±0.04
90 мин после ФЗ	
10 ; 40 ; 250	8.45±0.05***
15 ; 40 ; 375	19.17±0.07***
20 ; 60 ; 333	18.88±0.06***
40 ; 100 ; 400	18.89±0.09***
4 ч после ФЗ	
10 ; 40 ; 250	0.52±0.05
15 ; 40 ; 375	0.57±0.03
20 ; 60 ; 333	0.49±0.03
40 ; 100 ; 400	0.57±0.04

Примечание. $p < 0,001$; *** – относительно контроля (до ФЗ).

Как видно из представленных результатов, малые дозы ФЗ (10–15 Дж/см²) повышали проницаемость ГЭБ в дозозависимой прогрессии.

Лазерное облучение 15 Дж/см² сопровождалось в 2 раза ($p < 0.001$) более выраженным увеличением концентрации *Evans Blue* в тканях мозга, чем лазерное облучение с дозой 10 Дж/см². Однако дальнейшее повышение интенсивности ФЗ (20–40 Дж/см²) не приводило к более значительному открытию ГЭБ, т.е. уровень *Evans Blue* в тканях мозга соответствовал такому при ФЗ с дозой облучения 15 Дж/см².

Важно обратить внимание, что не было отмечено изменений в проницаемости ГЭБ в контрольной группе (до ФЗ) при облучении только одним лазером или при введении только 5-АЛА.

По данным гистологического анализа было установлено, что ФЗ на проницаемость ГЭБ сопровождалось во всех случаях развитием вазогенного отека (эдемы), т.е. накоплением избыточной жидкости в периваскулярном пространстве (рис. 1). Применение доз облучения 10 и 15 Дж/см² вызывало развитие умеренной эдемы, в то время как дозы ФЗ 20 и 30 Дж/см² приводили к появлению выраженного отека вокруг сосудов мозга. Восстановление тканей мозга наблюдалось через 3 дня после ФЗ (10 и 15 Дж/см²) и через 14 дней после ФЗ (20 и 30 Дж/см²).

Поскольку доза лазера 15 Дж/см² вызывала более выраженное повышение проницаемости ГЭБ на фоне тех же морфологических изменений, что и доза лазера 10 Дж/см², первая доза облучения была выбрана как оптимальная для ФЗ открытия ГЭБ.

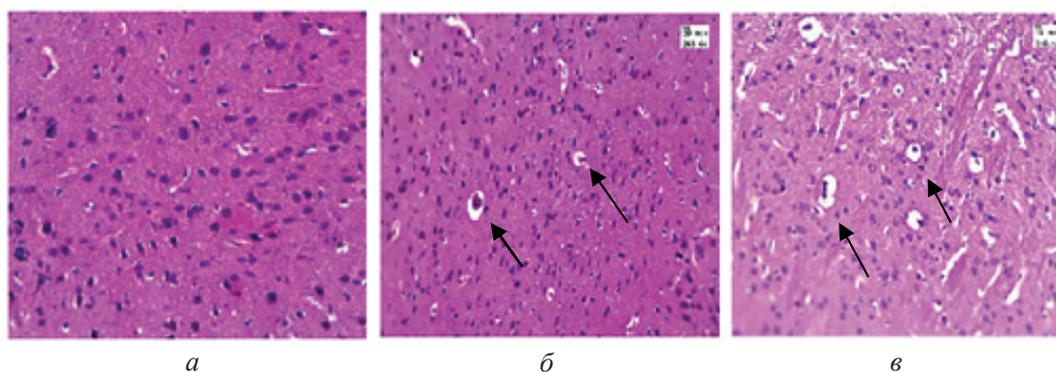


Рис. 1. Гистологическая картина изменения тканей и сосудов мозга после ФЗ повышения проницаемости ГЭБ. Стрелками показан вазогенный отек (эдема): а – до лазерного воздействия; лазерное воздействие 635 нм, 15 Дж/см² + 5-АЛА: б – 20 мг/кг; в – 80 мг/кг

На следующем этапе исследований проводили конфокальную микроскопию проницаемости ГЭБ к родаминовому декстрану 70 кДа, введенному внутривенно с применением маркера астроцитов (GFAP).

Результаты представлены на рис. 2. На верхней панели представлен контроль (до ФЗ). Как видно, декстран находится внутри сосудов, охваченных астроцитарными ножками. На нижней панели представлены данные через 90 мин

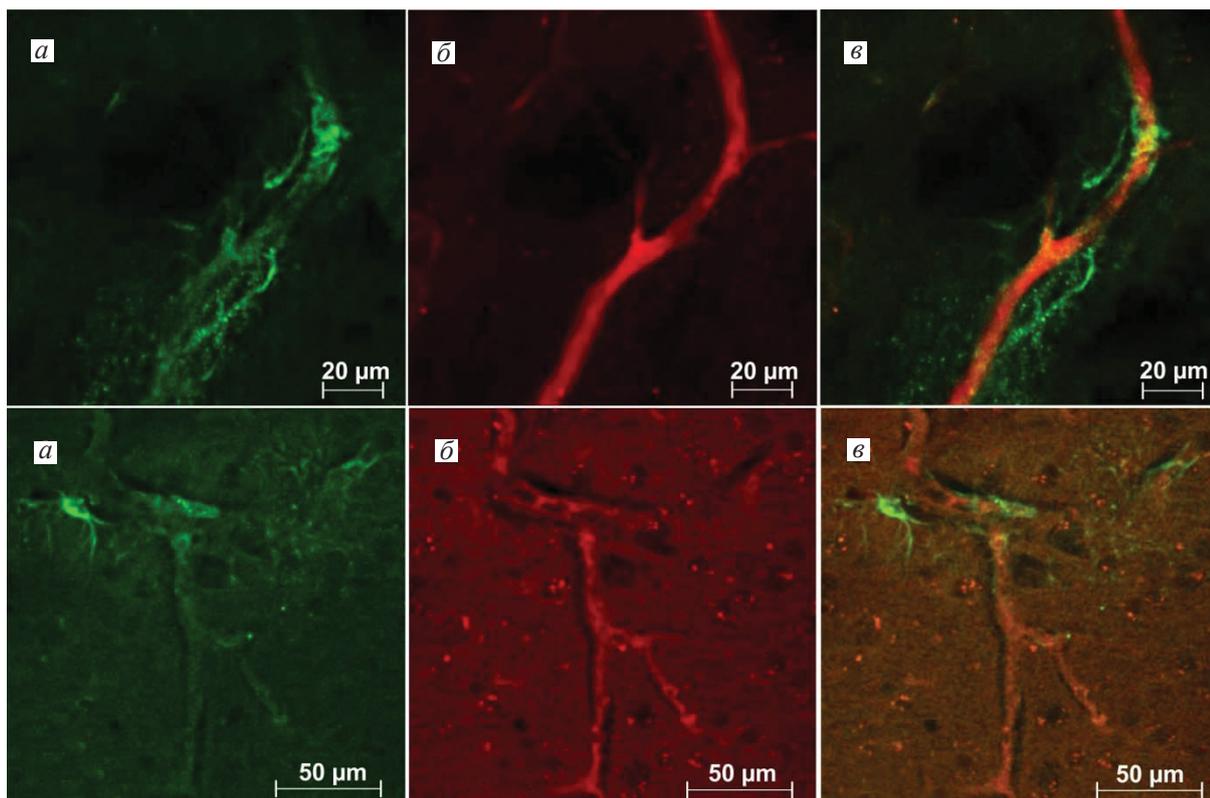


Рис. 2. Конфокальная микроскопия фотодинамического открытия ГЭБ для родаминового декстрана 70 кДа (красный цвет) с применением маркера астроцитов GFAP (зеленый цвет) в контроле (верхние снимки) и после ФЗ (нижние снимки): *a* – изображение астроцитов; *б* – декстран внутри сосудов и в паренхиме мозга (указано стрелками); *в* – совмещенная фотография *a* и *б*. Примерно 10–12 срезов анализировались с одного мозга

после ФЗ. Декстран обнаруживался между сосудами мозга и астроцитами, что свидетельствует об открытии ГЭБ и его высокой проницаемости к декстрану [10].

Таким образом, результаты показали эффективность фотодинамического повышения проницаемости ГЭБ в малых дозах лазерного облучения.

В ходе работы была показана оптимизация фотодинамических эффектов на проницаемость сосудов головного мозга. Была выявлена оптимальная доза ФЗ (635 нм, 15 Дж/см², 5-АЛА-20 мг/кг, *i.v.*) для проницаемости ГЭБ, в то время как в работах Хиршберга и Мэдсона [8, 9] в данной области дозы ФЗ не являются безопасными и не применимы в медицине.

Механизмы, лежащие в основе установленного ФЗ на открытие ГЭБ, мало изучены, но есть доказательства, что вызванный ФЗ синглетный кислород (¹O₂) оказывает негативный эффект на регулирование сосудистого тонуса эндотелиальных клеток, сокращает приток и выход кальция из внутриклеточных запасов [11, 12], тем самым

запасы кальция истощаются в клетках и наступает ключевой момент в механизмах, лежащих в основе прямого влияния ¹O₂ во время сужения и расширения сосудов.

Заключение

В результате работы была показана оптимальная доза ФЗ (635 нм, 15 Дж/см², 5-АЛА-20 мг/кг, *i.v.*) и его эффект на проницаемость сосудов головного мозга у здоровых мышей. При этих дозировках отмечается обратимое открытие ГЭБ с восстановлением мозговых тканей. Однако увеличение концентрации фотосенсибилизатора 5-АЛА вызывает повреждение мозговых тканей. Полученные результаты являются важной информативной платформой для получения принципиально новых знаний о фотомеханических эффектах на ткани и сосуды мозга.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (Проектная часть. Государственное задание № 17.1223.2017/ПЧ).



Список литературы

1. *Abbott N. J., Patabendige A. A., Dolman D. E., Yusof S. R., Begley D. J.* Structure and function of the blood-brain barrier // *J. Neurobiol Dis.* 2010. Vol. 37, № 1. P. 13–25.
2. *Pardridge W. M.* Blood-brain barrier delivery // *Journal Drug Discov. Today.* 2007. Vol. 12, № 1–2. P. 54–61.
3. *Mizutani T. A., Murayama Y., Ikoma H., Arita T., Kosuga T., Konishi H., Morimura R., Shiozaki A., Kuriu Y., Nakanishi M., Fujiwara H., Okamoto K., Otsuji E.* Useful Case of Photodynamic Diagnosis of Inferior Vena Cava Invasion by Pancreatic Head Cancer Using 5-Aminolevulinic Acid (5-ALA) // *Gan to Kagaku Ryoho.* 2018. Vol. 45, № 3. P. 575–577.
4. *Stummer W., Stepp H., Wiestler O. D., Pichlmeier U.* Randomized, Prospective Double-Blinded Study Comparing 3 Different Doses of 5-Aminolevulinic Acid for Fluorescence-Guided Resection of Malignant Gliomas // *Neurosurgery.* 2017. Vol. 81, № 2. P. 230–239.
5. *Kuroiwa T.* Photodynamic diagnosis and photodynamic therapy for the brain tumors // *Progress in Neuro-Oncology.* 2014. Vol. 21, № 3. P. 14–21.
6. *Krammer B.* Vascular effects of photodynamic therapy // *Anticancer Res.* 2001. Vol. 21, № 6B. P. 4271–4277.
7. *Stylli S. S., Kaye A. H.* Photodynamic therapy of cerebral glioma-A review Part I-A biological basis // *J. Clin. Neurosci.* 2006. Vol. 13, № 6. P. 615–625.
8. *Hirschberg H., Uzal F. A., Chighvinadze D., Zhang M. J., Peng Q., Madsen S. J.* Disruption of the Blood-Brain Barrier Following ALA-Mediated Photodynamic Therapy // *Lasers Surg. Med.* 2008. Vol. 40, № 8. P. 535–542.
9. *Madsen, S. J., Gach H. M., Hong S. J., Uzal F. A., Peng Q., Hirschberg H.* Increased nanoparticle-loaded exogenous macrophage migration into the brain following PDT-induced blood-brain barrier disruption // *Lasers Surg. Med.* 2013. Vol. 45, № 8. P. 524–532.
10. *Hoffmann A., Bredno J., Wendland M., Derugin N., Ohara P., Wintermark M.* High and low molecular weight fluorescein isothiocyanate (FITC)-dextran to assess blood-brain barrier disruption : technical consideration // *Transl. Stroke Res.* 2011. Vol. 2, № 1. P. 106–111.
11. *Semyachkina-Glushkovskaya O., Abdurashitov A., Pavlov A., Shirokov A., Navolokin N., Pavlova O., Gekalyuk A., Ulanova M., Shushunova N., Bodrova A., Saranceva E., Khorovodov A., Agranovich I., Fedorova V., Sagatova M., Shareef A. E., Zhang C., Zhu D., Tuchin V.* Laser speckle imaging and wavelet analysis of cerebral blood flow associated with the opening of the blood-brain barrier by sound // *Chin. Opt. Lett.* 2017. Vol. 15, № 9. P. 090002.
12. *Angell-Petersen E., Spetalen S., Madsen S. J., Sun C. H., Peng Q., Carper S. W., Sioud M., Hirschberg H.* Influence of light fluence rate on the effects of photodynamic therapy in an orthotopic rat glioma model // *J. Neurosurg.* 2006. Vol. 104, № 1. P. 109–117.

Optimization of Photodynamic Effects on Permeability of Cerebral Vessels

O. V. Semyachkina-Glushkovskaya, A. A. Shirokov, N. A. Navolokin, A. V. Terskov, A. A. Bodrova, N. A. Shushunova, A. P. Khorovodov, M. V. Ulanova, I. M. Agranovich, T. D. Iskra, A. T. Mamedova

Oksana V. Semyachkina-Glushkovskaya, <https://orcid.org/0000-0001-6753-7513>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, glushkovskaya@mail.ru

Aleksandr A. Shirokov, <https://orcid.org/0000-0003-3239-7877>, Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences (IBPFM RAS), 13, Entuziastov Ave., Saratov, 410049, Russia, shirokov_a@ibppm.ru

Nikita A. Novolokin, <https://orcid.org/0000-0001-7876-9758>, Saratov State Medical University, 112, Bolshaya Kazachya Str., Saratov, 410010, Russia, nik-navolokin@yandex.ru

Andrey V. Terskov, <https://orcid.org/0000-0003-1111-9990> Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, terskov.andrey@gmail.com

Anastasiya A. Bodrova, <https://orcid.org/0000-0002-0300-7481>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, nastya1535@mail.ru

Natalia A. Shushunova, <https://orcid.org/0000-0001-5366-1783>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, shushunovan.a@gmail.com

Aleksandr P. Khorovodov, <https://orcid.org/0000-0002-5318-5200>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, khorovodov2012@yandex.ru

Maria V. Ulanova, <https://orcid.org/0000-0002-6516-1687>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, maru-ulanova@mail.ru

Ilana M. Agranovich, <https://orcid.org/0000-0002-7903-3897>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, ilana.agranovich@yandex.ru

Tatyana D. Iskra, <https://orcid.org/0000-0002-1895-8159>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, tata-isk@yandex.ru

Aysel T. Mamedova, <https://orcid.org/0000-0002-0229-0801>, Saratov State University, Interdisciplinary Center of Critical Technologies in Medicine, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, mamedovaysel95@gmail.com



Photodynamic treatment (PDT) causes a significant increase in the permeability of the blood-brain barrier (BBB) in healthy mice. Using different doses of laser radiation (635 nm, 10–40 J/cm²) and photosensitizer (5-aminolevulinic acid – 5-ALA, i.v.), we found the optimal PDT for the reversible opening of the BBB, exhibiting brain tissue recovery 3 days after PDT. Further increases in the laser radiation or 5-ALA doses have no amplifying effect on the BBB permeability, but are associated with severe damage of brain tissues. These results can be an informative platform for further studies of new strategies in brain

drug delivery and for better understanding of mechanisms underlying cerebrovascular effects of PDT-related resection of brain tumor.

Key words: photodynamic treatment, blood-brain barrier, lasers, endothelial permeability.

Acknowledgements: *This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (Project Part., State Task no. 17.1223.2017 / FH).*

Образец для цитирования:

Семьячкина-Глушковская О. В., Широков А. А., Наволокин Н. А., Терсков А. В., Бодрова А. А., Шушунова Н. А., Хороводов А. П., Уланова М. В., Агранович И. М., Искра Т. Д., Мамедова А. Т. Оптимизация фотодинамических эффектов на проницаемость сосудов головного мозга // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 4. С. 423–428. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-4-423-428>

Cite this article as:

Semyachkina-Glushkovskaya O. V., Shirokov A. A., Navolokin N. A., Terskov A. V., Bodrova A. A., Shushunova N. A., Khorovodov A. P., Ulanova M. V., Agranovich I. M., Iskra T. D., Mamedova A. T. Optimization of Photodynamic Effects on Permeability of Cerebral Vessels. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 4, pp. 423–428 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-4-423-428>
