

Г.С. Киреева¹, С.С. Круглов¹, А.В. Тарасов², Е.А. Плахов¹, Е.А. Губарева¹,
М.А. Майдин¹, А.В. Панченко¹, Т.Г. Гришачева²

Модифицирующее действие диклофенака на эффекты фотодинамической терапии – исследование *in vivo*

¹ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург,

²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. И.П. Павлова» Минздрава России

Актуальность. Нестероидные противовоспалительные препараты и, в частности, диклофенак, рассматриваются как препараты с потенциально антиканцерогенным действием и могут использоваться для усиления эффектов противоопухолевой терапии. **Цель.** Оценить эффективность диклофенака в качестве потенциального модификатора фотодинамической терапии (ФДТ) *in vivo* на модели опухоли Эрлиха у мышей. **Материалы и методы.** Исследование проведено на мышах самцах линии BALB/C с внутрикожно перевитой карциномой Эрлиха. Экспериментальные воздействия проводили на 7 сутки после перевивки опухоли. Контрольная группа не получала лечения, в одной группе вводили только диклофенак, в трех группах вводили фотосенсибилизатор (фотодитазин, 5 мг/кг, внутривенно однократно), проводили облучение опухоли лазером (Алод, 662 нм) или проводили ФДТ, соответственно, а в трех группах перечисленные воздействия в каждом случае сочетались с введением диклофенака. Были проведены 2 серии экспериментов для оценки воспроизводимости результатов. Регистрировали размер опухоли после проведенного воздействия. **Результаты.** В первой серии эксперимента во всех группах с введением диклофенака (45 мг/кг/сутки) неожиданно наблюдалась высокая летальность животных, связанная с токсичным действием диклофенака, что потребовало изменения режима его введения и дозы (15 мг/кг) во второй серии эксперимента. Введение диклофенака существенно не влияло на эффективность ФДТ, а также не оказывало модифицирующего действия в других группах (с введением фотосенсибилизатора или лазерным облучением) по сравнению с аналогичными группами без диклофенака. Наиболее эффективным режимом лечения оказалась ФДТ с фотодитазином: у

8 из 10 мышей в группе через 21 день после процедуры опухоли не регистрировались, животные были живы до окончания наблюдения на 60 сутки. Введение фотосенсибилизатора и облучение без фотосенсибилизатора не приводило к значимому торможению роста опухоли. **Выводы.** В условиях *in vivo* на модели внутрикожно перевиваемой опухоли Эрлиха у мышей диклофенак не оказывает модифицирующего действия на противоопухолевые эффекты ФДТ.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, диклофенак, опухоль Эрлиха, исследование *in vivo*

Введение

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – это малоинвазивный метод лечения, одобренный для использования в клинической практике, в том числе для лечения злокачественных новообразований различной локализации [1]. На сегодняшний день опубликовано около 250 рандомизированных клинических исследований, сообщающих о результатах использования ФДТ у пациентов практически со всеми видами солидных опухолей. При этом результаты клинического применения ФДТ при опухолях различной локализации остаются неоднородными и противоречивыми [2, 3], что стимулирует изучение фундаментальных аспектов эффективности и безопасности ФДТ, а также поиск новых ФС или комбинаций ФС с другими агентами, модифицирующими их действие. Как и для других методов лечения злокачественных новообразований (за исключением хирургического), для ФДТ описано наличие механизмов резистентности опухолевых клеток к проводимой терапии [4, 5]. Одним из возможных механизмов резистентности опухолевых клеток к ФДТ является усиление выработки ими простагландина E2 в ответ

на фотодинамическое воздействие [6], связанное с Ca²⁺-опосредованной активацией циклооксигеназы 2 типа (ЦОГ2) и последующим увеличением уровня простагландина E₂ [7], а также с подавлением апоптоза при ФДТ [8]. Механизмы этого процесса на сегодняшний день находятся на этапе изучения *in vitro*. Было показано, что сочетание ФДТ с ингибиторами ЦОГ2 усиливает фототоксический эффект ФДТ на опухолевые клетки [7, 9].

Диклофенак – нестероидное противовоспалительное средство, неселективный ингибитор ЦОГ-2; соединения данного класса рассматривались как возможные агенты для профилактики рака. За последние 10-15 лет были опубликованы результаты доклинических и клинических исследований, в которых были показаны эффекты диклофенака на иммунную систему, ангиогенный каскад, химио- и радиорезистентность опухоли, и ее метаболизм. Наблюдается растущий интерес к диклофенаку как потенциальному противоопухолевому средству в рамках недавно сформировавшейся концепции пересмотра показаний хорошо известных лекарственных препаратов на предмет их эффективного использования в онкологии (Repurposing Drugs in Oncology – ReDO) [10]. Так, для диклофенака и ряда других нестероидных противовоспалительных препаратов показано наличие антиканцерогенного действия, в частности, в отношении опухолей толстой кишки [11], которое реализуется с участием нескольких механизмов, в том числе, блокады эффектов простагландина E₂ за счет ингибирования ЦОГ2 и блокады ЦОГ1 [12]. Таким образом, имеются основания предполагать, что диклофенак может потенцировать эффект ФДТ (как ЦОГ2 опосредованным путем, так и иными механизмами) и способствовать преодолению резистентности опухоли к ФДТ.

Целью данного исследования была оценка возможности применения диклофенака в качестве потенциального модификатора противоопухолевых эффектов ФДТ *in vivo* на модели опухоли Эрлиха у мышей.

Материалы и методы

Исследование проведено на мышках-самцах линии BALB/C. В течение эксперимента все животные находились в стандартных условиях содержания (12:12 часовая искусственный режим освещения, проточно-вытяжная вентиляция и температура 20-25 °С), получали стандартный комбинированный корм (ООО «Лабораторкорм») и питьевую воду *ad libitum*. Все манипуляции с животными осуществлялись в соответствии с этическими принципами, установленными Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, использующихся в экспериментальных и прочих научных целях (Страсбург, 1986 г.).

Была использована опухоль Эрлиха, которая перевивалась мышам внутрикожно в область бедра в количестве

5×10⁵ опухолевых клеток. Через 7 дней после перевивки опухоли животные с перевитой опухолью Эрлиха были рандомизированы на следующие группы:

1. Контроль с введением физиологического раствора внутривенно (в/в) через 0, 2, 6, 24 и 48 часов после начала эксперимента (непосредственно после формирования экспериментальных групп) (группа К);

2. Введение фотосенсибилизатора (группа ФС);

3. Лазерное облучение опухоли (группа ЛУЧИ);

4. Введение фотосенсибилизатора и лазерное облучение опухоли (группа ФДТ);

5. Введение диклофенака (Хемофарм А.Д., Сербия) через 0, 2, 6, 24 и 48 часов после начала эксперимента (непосредственно после формирования экспериментальных групп) (группа ДКФ); Диклофенак вводился внутривенно в суммарной дозе 45 мг/кг/сут.

6. Введение фотосенсибилизатора с введением диклофенака (45 мг/кг/сут) через 0, 2, 6, 24 и 48 часов после введения фотосенсибилизатора (группа ФСДКФ);

7. Лазерное облучение опухоли и введение диклофенака (45 мг/кг/сут) через 0, 2, 6, 24 и 48 часов после облучения (группа ЛУЧИДКФ);

8. Введение фотосенсибилизатора и облучение опухоли лазером с введением диклофенака (45 мг/кг/сут) через 0, 2, 6, 24 и 48 часов после введения фотосенсибилизатора (группа ФДТДКФ).

В качестве фотосенсибилизатора был использован фотодитазин (ООО «Вета Гранд», Россия), который вводился животным внутривенно однократно в дозе 5 мг/кг за 2 часа до начала облучения. Облучение опухолей выполнялось с помощью лазерного аппарата Алод (ООО «Алком медика», Россия): длина волны излучения – 662 нм. Лазерное излучение подводили с помощью световода с линзой для наружного облучения (ООО «Полироник», Россия), которая формировала равномерное пятно в зоне воздействия диаметром от 11 до 14 мм в зависимости от размера опухоли. Мощность излучения составляла от 0,6 до 1,0 Вт в зависимости от диаметра пятна, соответствующие плотность мощности и время облучения приведены в табл. 1. Плотность энергии, или доза облучения во всех экспериментах составила 300 Дж/см².

Были проведены 2 серии экспериментов, чтобы проверить воспроизводимость результатов (рис. 1). Как будет описано ниже в разделе «Результаты», эффекты в группах с введением диклофенака существенно отличались между первой и второй сериями экспериментов, тогда как в группах К, ФС, ЛУЧИ и ФДТ результаты в двух сериях были сопоставимы и демонстрировали одинаковые тренды. В связи с этим, данные, полученные в группах К, ФС, ЛУЧИ и ФДТ, были объединены для двух серий экспериментов, а результаты в группах мышей, где вводился диклофенак, обрабатывались и анализировались отдельно для каждой серии, и в обозначении данных групп появился дополнительный цифровой индекс (1 – для первой серии, 2 – для второй серии) (рис. 1).

День проведения соответствующих манипуляций в группах был принят за нулевой. Опыт был завершен на 56 сутки, что было обусловлено наблюдением за животными с регрессировавшими опухолями в течение 30 дней. Гуманными критериями для проведения эвтаназии были: размер опухоли больше 2 см в наибольшем измерении, полная анорексия в течение 24 часов, признаки кахексии, слабость/невозможность получения корма или воды [13]. Если животное подвергалось эвтаназии до конца эксперимента, эта дата считалась датой гибели. Животные, оставшиеся живыми к концу времени наблюдения, также подвергались эвтаназии методом ингаляции CO₂.

Противоопухолевая активность оценивалась по показателю торможения роста опухоли (ТРО), который рассчитывали у мышей с опухолями [14].

Таблица 1. Параметры лазерного облучения в зависимости от размеров опухоли

Диаметр пятна на объекте, см	Мощность излучения, Вт	Плотность мощности, мВт/см ²	Время облучения, мин	Плотность энергии, Дж/см ²
11	0,6	631	8	300
12	0,7	618	8	300
13	0,8	602	8,5	300
14	1,0	650	8	300

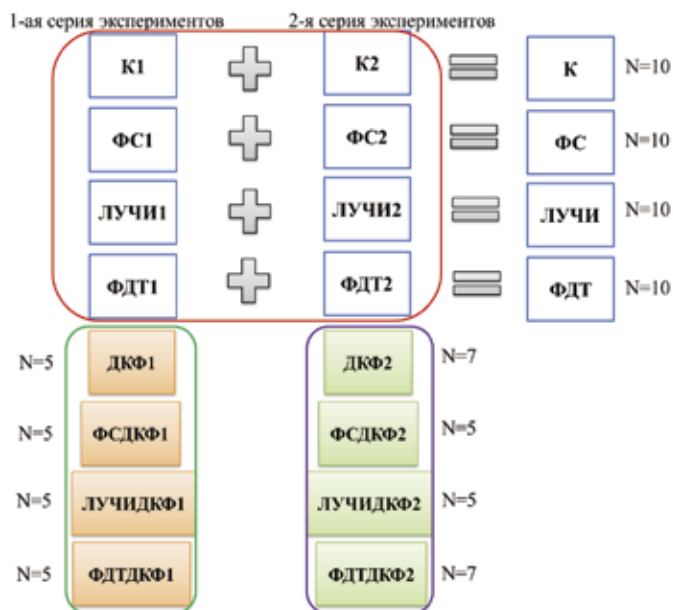


Рис. 1. Схема эксперимента. N – число мышей в группе

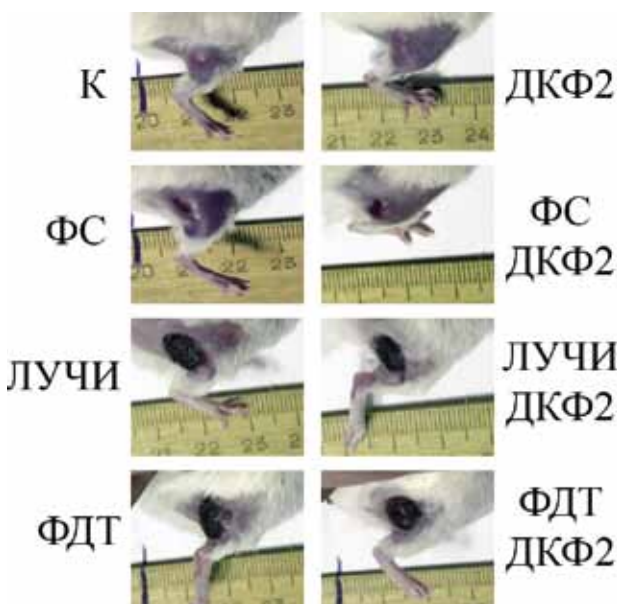


Рис. 2. Внешний вид опухоли Эрлиха на первые сутки после проведенных воздействий

При статистической обработке результатов опытов использовали программное обеспечение MS Excel 2016 и GraphPad Prism 6.0. Значимость различий оценивали с использованием критерия t Стьюдента и лог-ранк теста Ментеля-Хензеля.

Результаты

На первые сутки у мышей с опухолью Эрлиха в группах, подверженных воздействию лазера, развивался асептический раневой процесс и образовывался плотный струп в месте воздействия (рис. 2). В группах с проведенной фотодинамической терапией у части животных на 16 сутки после воздействия начиналось отхождение, а на 21 сутки – эпителизация струпа, после чего образовывался рубец (рис. 3). Под областью воздействия наблюдалась гипотрофия мышечной ткани. До конца времени наблюдения за животными опухолевого роста в месте перевивки и последующего воздействия не наблюдалось.

По итогам анализа результатов в группах без введения диклофенака установлено, что наиболее эффективным режимом лечения, как и ожидалось, была ФДТ: 8 из 10 мышей с перевитой опухолью Эрлиха были живы на момент

окончания срока наблюдения (рис. 4), причем, начиная с 28 дня после сеанса ФДТ у данных животных опухоли не регистрировались (табл. 1). Введение фотосенсибилизатора и облучение без фотосенсибилизатора не способствовало значимому торможению роста опухоли (табл. 1), и большинство животных в группах ФС и ЛУЧИ погибали в те же сроки, что и в контрольной группе (рис. 4).

Введение диклофенака в первой серии экспериментов в дозе 45 мг/кг/сутки (группы ДКФ1, ФСДКФ1, ЛУЧИДКФ1, ФДТДКФ1) привело к токсическому эффекту по сравнению с аналогичными группами без введения диклофенака (ФС, ЛУЧИ, ФДТ). Так, к 14 дню после проведенного лечения в группах ДКФ1 и ФСДКФ1 оставались живы 2 и 1 мышь соответственно, а в группе, где была выполнена ФДТ с диклофенаком (ФДТДКФ1) уже на 4-й день из 5 мышей живы оставались 2 (рис. 5А, Б). Вероятно, сравнение значений объема опухоли в данных группах со значениями в контрольной группе позволило бы получить статистически значимую разницу (табл. 2), однако проведение такого расчета, также, как и использование этих результатов в дальнейшем анализе не представляется



Рис. 3. Процесс заживления области с перевитой опухолью Эрлиха и с последующим облучением в группе ФДТДКФ2. Цифры указывают на дни после проведенных воздействий

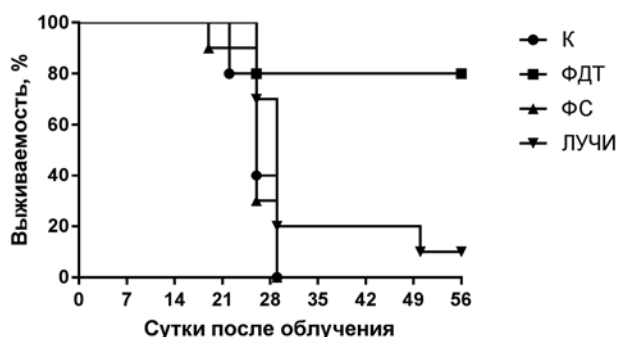
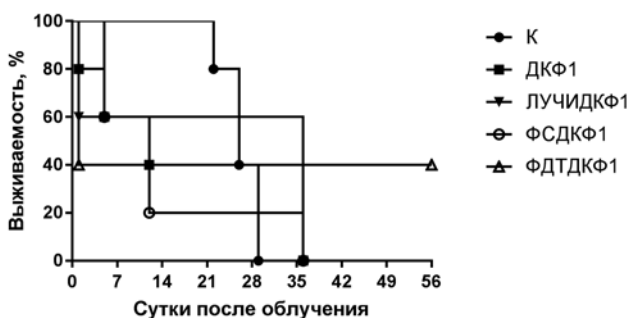


Рис. 4. Динамика гибели мышей с опухолью Эрлиха после проведенных манипуляций в группах без введения диклофенака



возможным из-за большого процента погибших животных в группах с введением диклофенака.

Во второй серии экспериментов режим введения диклофенака был изменен: препарат вводился в разовой дозе 15 мг/кг непосредственно перед воздействием (0 часов) и через 24 часа после воздействия (группы ДКФ2, ФСДКФ2, ЛУЧИДКФ2, ФДТДКФ2). Наиболее выраженный противоопухолевый эффект был получен в группе ФДТДКФ2 (рис. 5А, Б). Однако с 28-го дня положительная динамика уменьшения среднего объема опухоли у мышей данной группы сменилась ростом опухолей (табл. 1). В группе ЛУЧИДКФ2 средний объем опухоли после лечения оставался достоверно меньше по сравнению с контрольной группой (за исключением 9-го) дня (табл. 1), но к 28-ому дню из 5 мышей вживых оставалось 2 (рис. 5 А, Б). Сто-процентная гибель животных к 28-ому дню была зарегистрирована в двух других группах, где диклофенак вводился самостоятельно (ДКФ2) или в комбинации с фотосенсибилизатором (ФСДКФ2) (рис. 4Б). Средний объем опухоли в этих группах с 0 по 28-й день стабильно увеличивался, несмотря на оказанное воздействие, по аналогии с группой ФС, где мышам вводился только фотосенсибилизатор (табл. 1).

Обсуждение

В литературных источниках опубликованы противоречивые данные относительно эффектов ФДТ на опухолевые клетки с метаболизмом арахидоновой кислоты, модифицированным непосредственно перед ФДТ. Так, было показано, что ФДТ с фотосенсибилизаторами порфиринового и хлоринового рядов стимулирует экспрессию ЦОГ2 с последующим образованием ПГЕ2 [8, 15]. Комбинация ФДТ с селективным ЦОГ2-ингибитором (NS-398) приводила к усиленному фотоповреждению клеток фибросаркомы RIF-1 [15]. Аналогично, Henderson et al. [6] и Penning et al. [7] продемонстрировали, что неспецифичный ин-

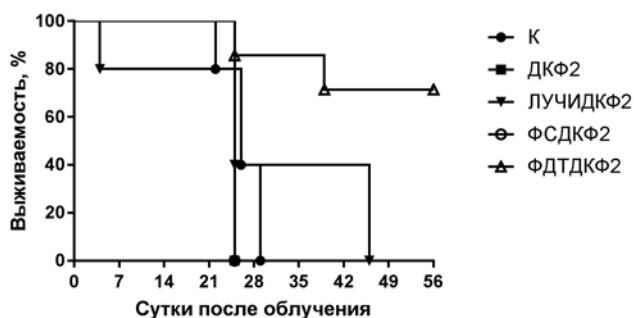


Рис. 5. Динамика гибели мышей с опухолью Эрлиха после проведенных манипуляций в группах с введением диклофенака. (А) в первой серии опытов, (Б) во второй серии опытов

Таблица 1. Динамика изменения объема опухоли Эрлиха у мышей в группах без введения диклофенака (объединенные данные для двух серий экспериментов) и в группах с введением диклофенака по результатам второй серии экспериментов

Группа 0		Дни после воздействия										
		4	7	9	14	21	28	35	42	49	56	
К	V	0,20±0,03	0,37±0,04	0,54±0,04	0,61±0,07	1,18±0,05	1,65±0,19	2,55±0,12	-	-	-	-
	N	10	10	10	10	10	10	4	0	-	-	-
ФС	V	0,15±0,02	0,31±0,04*	0,44±0,04	0,47±0,05	1,16±0,29	1,52±0,26	2,44±0,27	-	-	-	-
	N	10	10	10	10	10	9	3	0	-	-	-
	ТРО	25 %	16 %	19 %	23 %	2 %	8 %	4 %	-	-	-	-
ЛУЧИ	V	0,16±0,02	0,33±0,05	0,37±0,04*	0,47±0,10	0,73±0,24*	1,59±0,24	2,57±0,39	1,05	2,12	2,97	-
	N	10	10	10	10	10	10 (1)	7 (1)	2 (1)	2 (1)	2 (1)	1 (1)
	ТРО	20 %	11 %	31 %	23 %	38 %	4 %	-1 %	-	-	-	-
ФДТ	V	0,16±0,02	0,27±0,04*	0,33±0,03*	0,30±0,08*	0,31±0,17*	0,48±0,37*	0	-	-	-	-
	N	10	10	10	10	10	10 (2)	8 (8)	8 (8)	8 (8)	8 (8)	8 (8)
	ТРО	20 %	27 %	39 %	51 %	74 %	71 %	100 %	-	-	-	-
ДКФ2	V	0,12±0,02	0,14±0,02*	0,23±0,05*	0,59±0,17*	0,64±0,26*	1,06±0,22*	-	-	-	-	-
	N	7	7	7	7	7	7	0	-	-	-	-
	ТРО	40 %	62 %	57 %	3 %	46 %	36 %	-	-	-	-	-
ФСДКФ2	V	0,13±0,02	0,18±0,03	0,22±0,03	0,35±0,04	0,38±0,05	0,92±0,14	-	-	-	-	-
	N	5	5	5	5	5	5	0	-	-	-	-
	ТРО	35 %	51 %	59 %	43 %	68 %	44 %	-	-	-	-	-
ЛУ-ЧИДКФ2	V	0,14±0,02	0,23±0,08*	0,27±0,10*	0,33±0,14*	0,34±0,01*	0,72±0,40*	0,36±0,10	0,97±0,78	2,25±0,78	-	-
	N	5	5	4	4	4	4	2	2	2	0	-
	ТРО	30 %	38 %	50 %	46 %	75 %	56 %	86 %	-	-	-	-
ФДТДКФ2	V	0,13±0,01	0,21±0,03*	0,32±0,04*	0,29±0,05*	0,27±0,11*	0,30±0,30*	0,34±0,33*	0,85±0,85	0,32±0,09	0,58±0,12	1,09±0,23
	N	7	7	7	7	7	7 (2)	6 (3)	6 (3)	5 (3)	5 (3)	5 (3)
	ТРО	35 %	43 %	41 %	52 %	77 %	82 %	87 %	-	-	-	-

Примечание:

V - объем опухоли (среднее ± стандартная ошибка среднего), см3. N – число живых мышей, в скобках, если указано, число животных без опухолей. ТРО – торможение роста опухоли, %. * - значения статистически значимо (p<0,05) отличаются от соответствующих значений в контрольной группе.

Таблица 2. Динамика изменения объема опухоли Эрлиха у мышей в контрольной группе (объединенные данные для двух серий экспериментов) и в группах с введением диклофенака по результатам первой серии экспериментов

Группа 0		Дни после воздействия										
		4	7	9	14	21	28	35	42	49	56	
К	V	0,20±0,03	0,37±0,04	0,54±0,04	0,61±0,07	1,18±0,05	1,65±0,19	2,55±0,12	-	-	-	-
	N	10	10	10	10	10	10	4	0	-	-	-
ДКФ1	V	0,12±0,01	0,21±0,05	0,20±0,05	0,25±0,04	0,26±0,04	0,61±0,04	0,96±0,56	2,33±0,69	-	-	-
	N	5	4	3	3	2	2	2	2	0	-	-
	ТРО	40	43	63	59	78	63	62	-	-	-	-
ФСДКФ1	V	0,18±0,01	0,38±0,05	0,60±0,04	0,44±0,03	0,56	1,02	1,78	2,87	-	-	-
	N	5	5	3	3	1	1	1	1	0	-	-
	ТРО	10	-3	-11	28	53	38	30	-	-	-	-
ЛУ-ЧИДКФ1	V	0,19±0,02	0,24±0,09	0,21±0,08	0,13±0,02	0,16±0,07	0,34±0,20	0,68±0,26	1,70±0,80	-	-	-
	N	5	3	3	3	3	3	3	3	0	-	-
	ТРО	5	35	61	79	86	79	73	-	-	-	-
ФДТДКФ1	V	0,17±0,02	0,16±0,03	0,15±0,07	0,15±0,01	0,09±0,03	0,08±0,01	0,07	0,12	0,24	0,34	1,05
	N	5	2	2	2	2	2	2 (1)	2 (1)	2 (1)	2 (1)	2 (1)
	ТРО	15	57	72	75	92	95	97	-	-	-	-

Примечание:

V - объем опухоли (среднее ± стандартная ошибка среднего), см3. N – число живых мышей, в скобках, если указано, число животных без опухолей. ТРО – торможение роста опухоли, %.

гибитор ЦОГ2 индометацин повышал чувствительность опухолевых клеток к ФДТ. В то же время упомянутый выше ЦОГ2-ингибитор NS-398 вызывал повышенную выработку ЦОГ2 и резистентность к ФДТ-индуцированному апоптозу клеток линии HeLa [8, 16]. Makowski et al. провели исследование на культуре клеток C-26 (мышинная карцинома толстой кишки), в ходе которого было установлено, что введение селективного ЦОГ2 ингибитора после ФДТ (но не до, и не во время) усиливало противоопухолевые эффекты ФДТ с фотосенсибилизатором порфиринового ряда [9]. Помимо противоречивости приведенных данных, исследования, в результате которых они были получены, имеют существенное ограничение возможности их интерпретировать – они были выполнены *in vitro*. Данное исследование выполнено на мышах с перевиваемой опухолью Эрлиха, является первым исследованием роли ингибиторов ЦОГ2 в качестве модификаторов противоопухолевых эффектов ФДТ *in vivo*.

Главным итогом выполненных экспериментов стало отсутствие потенцирующего или синергического эффекта диклофенака на противоопухолевое действие ФДТ в условиях *in vivo*. Более того, введение диклофенака в кумулятивной дозе 45 мг/кг в первой серии эксперимента оказало выраженный токсический эффект на животных во всех группах с введением диклофенака, несмотря на то, что использованная доза диклофенака была значительно меньше описанной в литературе среднелетальной дозы [17] и соответствовала дозам, использованным в других экспериментальных исследованиях [18, 19]. Смена режима введения диклофенака во второй серии экспериментов, обусловленная непредсказуемо высокой токсичностью препарата в первой серии, является основным ограничением проведенного исследования. При этом, самостоятельно ФДТ с фотодитазином оказала выраженное противоопухолевое действие, подтвердив тем самым эффективность данного метода лечения, с учетом ограниченного времени наблюдения за животными.

Заключение

В условиях *in vivo* на модели внутрикожно перевиваемой опухоли Эрлиха у мышей диклофенак не оказывает модифицирующего действия на противоопухолевые эффекты ФДТ. Полученные результаты не подтверждают данные ряда исследований *in vitro*, в которых препараты-ингибиторы ЦОГ-2 повышали чувствительность опухолевых клеток к ФДТ. Особенности режимов введения диклофенака, с которыми мы столкнулись, определяет необходимость проведения

экспериментов с использованием безопасных доз диклофенака и определением содержания ПГЕ2 в опухоли после ФДТ и после ФДТ с диклофенаком для оценки его возможного эффекта на рост/регресс опухоли.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-315-00224).

ЛИТЕРАТУРА

1. Agostinis P, Berg K, Cengel KA, et al. Photodynamic therapy of cancer: an overview. *CA Cancer J Clin.* 2011;61:250–281. doi: 10.3322/caac.20114.
2. Bahner JD, Bordeaux JS. Non-melanoma skin cancers: photodynamic therapy, cryotherapy, 5-fluorouracil, imiquimod, diclofenac, or what? Facts and controversies. *Clin Dermatol.* 2013;31:792-798. doi: 10.1016/j.clindermatol.2013.08.020.
3. Wan MT, Lin JY. Current evidence and applications of photodynamic therapy in dermatology. *Clin Cosmet Invest Dermatol.* 2014;7:145-163. doi: 10.2147/CCID.S35334
4. Buytaert E, Dewaele M, Agostinis P. Molecular effectors of multiple cell death pathways initiated by photodynamic therapy. *Biochem. Biophys. Acta.* 2007;1776:86–107. doi:10.1016/j.bbcan.2007.07.001.
5. Hasan T. Using cellular mechanisms to develop effective combinations of photodynamic therapy and targeted therapies. *J Natl Compr Canc Netw.* 2012;10(Suppl 2):23–26.
6. Henderson BW, Donovan JM. Release of prostaglandin E2 from cells by photodynamic treatment *in vitro*. *Cancer Res.* 1989;49:6896–6900.
7. Penning LC, Keirse MJ, Van Steveninck J, Dubbelman TM. Ca(2+)-mediated prostaglandin E2 induction reduces haematoporphyrin-derivative-induced cytotoxicity of T24 human bladder transitional carcinoma cells *in vitro*. *Biochem J.* 1993;292(Pt 1):237–240.
8. Hendrickx N, Volanti C, Moens U, et al. Up-regulation of cyclooxygenase-2 and apoptosis resistance by p38 MAPK in hypericin-mediated photodynamic therapy of human cancer cells. *J Biol Chem.* 2003;278:52231–52239. doi:10.1074/jbc.M307591200.
9. Makowski M, Grzela T, Niderla J, et al. Inhibition of cyclooxygenase-2 indirectly potentiates antitumor effects of photodynamic therapy in mice. *Clin Cancer Res.* 2003;9:5417–5422.
10. Pantziarka P, Sukhatme V, Bouche G, et al. Repurposing Drugs in Oncology (ReDO)—diclofenac as an anti-cancer agent. *Ecancermedicalscience.* 2016;10:610–616. doi: 10.3332/ecancer.2016.610.
11. Hendrickx N, Volanti C, Moens U, et al. Up-regulation of cyclooxygenase-2 and apoptosis resistance by p38 MAPK in hypericin-mediated photodynamic therapy of human cancer cells. *J Biol Chem.* 2003;278:52231–52239. doi:10.1074/jbc.M307591200.

12. Falkowski M, Skogstad S, Shahzidi S, et al. The effect of cyclooxygenase inhibitor diclofenac on experimental murine colon carcinoma. *Anticancer Res.* 2003;23:2303–2308.
13. Wallace J. *Humane Endpoints and Cancer Research ILAR Journal*, Volume 41, Issue 2, 2000, Pages 87–93.
14. Стуков А.Н., Иванова М.А., Никитин А.К., и др. Индекс роста опухоли как интегральный критерий эффективности противоопухолевой терапии в эксперименте. // *Вопросы онкологии.* – 2001. – Т.47, №5. – С. 616–618. [Stukov AN, Ivanova MA, Nikitin AK, et al. Tumor growth index as an integral criterion for the efficacy of antineoplastic therapy under experimental conditions. *Voprosy onkologii.* 2001;47(5):616–618. (In Russ).].
15. Ferrario A, Von Tiehl K, Wong S, et al. Cyclooxygenase-2 inhibitor treatment enhances photodynamic therapy-mediated tumor response. *Cancer Res.* 2002;62:3956–3961.
16. Hendrickx N, Dewaele M, Buytaert E, et al. Targeted inhibition of p38alpha MAPK suppresses tumor-associated endothelial cell migration in response to hypericin-based photodynamic therapy. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;337:928–935. doi:10.1016/j.bbrc.2005.09.135.
17. Committee for veterinary medicinal products. Diclofenac. Summary report [Internet]. [updated 2003 Sep; cited 2018 Sep 18]. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500013751.pdf.
18. Valle BL, D'Souza T, Becker KG, et al. Non-steroidal anti-inflammatory drugs decrease E2F1 expression and inhibit cell growth in ovarian cancer cells. *PLoS One.* 2013;24:e61836. doi: 10.1371/journal.pone.0061836.
19. Gottfried E, Lang SA, Renner K, et al. New aspects of an old drug--diclofenac targets MYC and glucose metabolism in tumor cells. *PLoS One.* 2013;9:e66987. doi: 10.1371/journal.pone.0066987.

Поступила в редакцию 23.01.2019 г.

*G.S. Kireeva¹, S.S. Kruglov¹, A.V. Tarasov²,
E.A. Plakhov¹, E.A. Gubareva¹, M.A. Maydin¹,
A.V. Panchenko¹, T.G. Grishacheva²*

Modifying action of diclofenac on effects of photodynamic therapy - in vivo study

¹N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, the Ministry of Healthcare of the Russian Federation,

²Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

Introduction. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and, in particular, diclofenac, are considered as drugs with a potentially anticarcinogenic effect and can be used to enhance the effects of antitumor therapy. **Aim.** To evaluate the effectiveness of diclofenac as a potential modifier of photodynamic therapy (PDT) in vivo in Ehrlich tumor model in mice. **Materials and methods.** The study was conducted on male mice of BALB/C strain with intradermally grafted Ehrlich carcinoma. Experimental procedures were performed on day 7 after tumor inoculation. The control group did not receive treatment, in one group only diclofenac was administered, photosensitizer was administered in three groups (photoditazin, 5 mg / kg, intravenously once), tumor was irradiated with a laser (ALOD, 662 nm) or PDT was performed, respectively, and in three groups the procedures indicated above in each case were combined with the administration of diclofenac. 2 series of experiments were conducted to assess the reproducibility of the results. The size of the tumor was recorded after exposure. **Results.** In the first series of the experiment, in all groups with the administration of diclofenac (45 mg/kg/day), a high animal mortality was unexpectedly observed, associated with the toxic effect of diclofenac, which required a change in its administration regime and dose (15 mg/kg) in the second series of the experiment. The administration of diclofenac did not significantly affect the efficacy of PDT, and also did not have a modifying effect in other groups (with the introduction of a photosensitizer or laser irradiation) compared with similar groups without diclofenac. PDT with photoditazine turned out to be the most effective treatment regimen: in 8 out of 10 mice in the group from the 21th day after procedure the tumors were not recorded, the animals were alive until the end of the observation for 60 days. The introduction of a photosensitizer and radiation without a photosensitizer did not lead to a significant inhibition of tumor growth. **Conclusion.** In vivo on a model of intradermally grafted Ehrlich tumor in mice, diclofenac does not have a modifying effect on the antitumor effects of PDT.

Keywords: photodynamic therapy, diclofenac, Ehrlich tumor, in vivo study