

DOI: 10.21870/0131-3878-2020-29-3-42-51

УДК 616-006.6-092.9:615.831

## Фотодинамическая терапия карциномы Эрлиха мышей с липосомальным борированным хлорином еб

Абрамова О.Б., Дрожжина В.В., Чурикова Т.П., Береговская Е.А.,  
Капкан М.А., Иванов С.А., Каприн А.Д.<sup>1</sup>

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Обнинск;  
<sup>1</sup> ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва

В данной работе изучали эффективность фотодинамической терапии (ФДТ) карциномы Эрлиха мышей с введением нового отечественного фотосенсибилизатора (ФС) липосомального борированного хлорина еб. Для определения оптимального лекарственно светового интервала (от момента введения ФС до облучения лазером) изучали кинетику распределения ФС в опухолях и окружающих их здоровых тканях. При оценке ответа ингибирующего эффекта карциномы Эрлиха на ФДТ использовали следующие показатели: торможение роста опухолей (ТРО, %), полная регрессия (ПР, %), коэффициенты абсолютного прироста опухолей (К) у мышей с продолженным ростом неоплазий, увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) особей в опытных группах по сравнению с контролем – по критерию излечения животных: отсутствие признаков рецидивирования опухоли в течение 90 суток после терапии. Полученные результаты показали, что липосомальный борированный хлорин еб обладает высокой противоопухолевой активностью для ФДТ солидной карциномы Эрлиха. Проведение ФДТ в оптимальные сроки после введения ФС с определёнными параметрами лазерного воздействия позволяет достичь максимального ингибирующего эффекта на злокачественные новообразования.

**Ключевые слова:** фотодинамическая терапия, карцинома, фотосенсибилизатор, динамика накопления, индекс контрастности, лазер, торможение роста опухоли, полная регрессия опухоли, увеличение продолжительности жизни, излечение.

### Введение

В настоящее время фотодинамическая терапия (ФДТ) занимает одно из ведущих мест в локальном лечении поверхностных злокачественных опухолевых заболеваний. ФДТ – это направление противоопухолевой терапии, в котором воздействие на ткань опухоли введённого фотосенсибилизатора (ФС) инициируется световым излучением, поглощаемым этим ФС. В опухоли начинается фотохимическая реакция с образованием синглетного кислорода и кислотных свободных радикалов, оказывающих токсическое воздействие на опухолевые клетки. Кроме прямого цитотоксического воздействия ФДТ на опухолевые клетки важную роль в деструкции новообразования играют: нарушение кровоснабжения за счёт повреждения эндотелия кровеносных сосудов опухолевой ткани; цитокиновые реакции, обусловленные стимуляцией продукции фактора некроза опухоли, активацией макрофагов, лейкоцитов и лимфоцитов [1-4]. Возможности современной онкологии значительно расширились с появлением ФДТ. Это высокоэффективный метод лечения злокачественных новообразований, проводимый с использованием современных полупроводниковых лазеров и препаратов-сенсибилизаторов, способных селективно накапливаться в атипичных клетках и опухолевых тканях. Прогресс ФДТ опухолей связан с разработкой новых и оптимизацией уже существующих режимов ФДТ злокачественных опухолей различных морфологических типов и локализаций, а также с созданием новых более эффективных и безопасных лекарственных средств – ФС, обеспечивающих достаточный тера-

Абрамова О.Б.\* – зав. лаб., к.м.н.; Дрожжина В.В. – научн. сотр., Чурикова Т.П. – мл. научн. сотр.; Береговская Е.А. – мл. научн. сотр.; Капкан М.А. – зав. отд., д.м.н., проф.; Иванов С.А. – директор, д.м.н., проф. МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. Каприн А.Д. – ген. директор, акад. РАН, д.м.н., проф. ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России.

\*Контакты: 249035, Калужская обл., Обнинск, ул. Королева, 4. Тел.: +7 (910) 510-08-62; e-mail: olyabramova@gmail.com.

пептический эффект при минимальном повреждении окружающих здоровых тканей и отсутствии общетоксического действия [5, 6]. Большой интерес в качестве ФС вызывают производные ряда хлорофилла. Существующие ФС обладают хорошими фотоактивными свойствами. Однако использование их ограничено глубиной проникновения в ткани источника света (лазеров). Поэтому использование в качестве ФС препаратов, которые бы обладали одновременно фотоактивными свойствами и могли бы быть использованы для лучевой терапии, в частности, нейтрон-захватной терапии (НЗТ) – метода локального воздействия на опухоль. Однако, препараты, используемые для НЗТ, не дают возможности проследить границы опухоли и динамику её лечения. Этот недостаток может быть устранён путём придания им фотоактивных свойств. Для этого в ФС (хлорин е6) был введён бор, обладающий нейтрон-захватными свойствами. Таким образом синтезированный борированный хлорин е6 позволил проводить ФДТ и при необходимости дополнить её НЗТ. Как показал патентный поиск, такой препарат был синтезирован впервые [7, 8]. А предварительные экспериментальные исследования свидетельствовали о его хороших фотоактивных свойствах и низкой токсичности. В настоящее время ведутся активные работы по созданию липосомальных форм хлориновых ФС с расширенным спектром возможностей. Они проявляют на порядок большую световую токсичность, при отсутствии темновой токсичности, повышают селективность накопления в опухоли, что увеличивает эффективность ФДТ на более малых дозах ФС [9-11].

Для эффективного проведения ФДТ была изучена кинетика тканевого распределения ФС в опухолевой и здоровой тканях бедра. Этот метод позволяет количественно определить степень накопления сенсбилизатора в различных тканях *in vivo* и контролировать параметры ФДТ во время самой процедуры. Использование компьютерной программы, обрабатывающей сигнал со спектрометра, позволяет в реальном масштабе времени определять степень накопления ФС в исследуемой ткани, наблюдать спектры, измерять их параметры. Основным преимуществом методов спектрального анализа тканей *in vivo* является его неинвазивность. Это позволяет получать информацию о состоянии тканей, не оказывая влияния на динамику различных биологических процессов [12-14].

Цель исследования – изучение противоопухолевой эффективности ФДТ с ФС липосомальным борированным хлорином е6 на экспериментальную карциному Эрлиха мышей.

### Материалы и методы

Исследования проведены на беспородных мышах с имплантированной экспериментальной моделью опухоли – карциномой Эрлиха [15]. Асцитическую жидкость карциномы Эрлиха от мышей-доноров по 0,1 мл вводили подкожно в область бедра для воспроизведения солидной опухоли. В опыт мышей брали на 4-й день, когда размер опухоли был равен 0,5-0,6 см. В качестве ФС изучали липосомальный борированный хлорин е6 (рис. 1).

Борированный хлорин е6 был синтезирован в Институте элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН. Липосомальная форма борированного хлорина разработана и синтезирована в ГОУ ВПО ПМГМУ им. И.М. Сеченова на кафедре фармацевтической технологии и фармакологии. Состав липосомальной формы: борхлорин:лецитин – 1:200 и лецитин:холестерин – 3:1, который обеспечивал включение борхлорина на уровне 99%, ПЭГ-ДГФА, приемлемый размер липосом  $185 \pm 10$  нм и значение pH 6,9. В качестве растворителя для гидратации липидной плёнки используют воду для инъекций, раствор криопротектора (раствор сахара при молярном соотношении лецитин:сахароза 1:5) и изотонический раствор натрия хлори-

да. При модификации фотосенсибилизаторов путём присоединения борных кластеров к тетрапиррольному макроциклу существенно оптимизируются свойства противоопухолевого препарата. Механизм действия борированных производных хлорина еб – глубокое проникновение в липидный бислой мембраны клеток, что обеспечивает необратимое повреждение опухолевых клеток благодаря индукции первичного некроза. Фармакодинамику ФС в опухолевой и здоровой тканях бедра изучали с помощью спектрофлуоресцентного метода на комплексе ЛЭСА-01-«Биоспек», Россия. Уровень накопления ФС оценивали по интенсивности флуоресценции в условных единицах. Селективность определяли по индексу контрастности (опухоль/здоровая ткань).

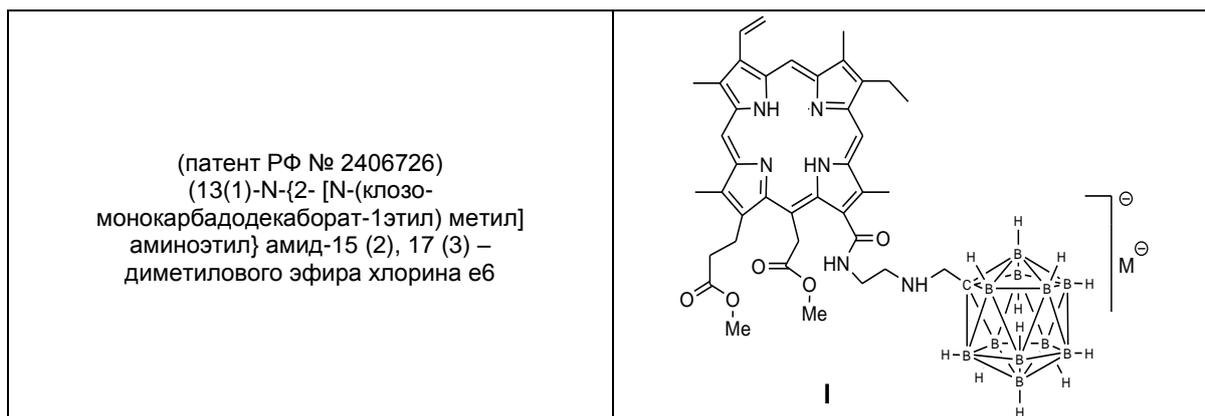


Рис. 1. Структурная формула борированного хлорина еб.

Исследование проведено на четырёх группах животных с разными дозами ФС и с различными параметрами плотности мощности –  $Ps=0,28$  и  $Ps=0,51$  Вт/см<sup>2</sup> и с одинаковой плотностью энергии –  $E=100$  лазерного излучения:

- 1 группа. Доза ФС 0,70 мг/кг ( $Ps=0,51$  Вт/см<sup>2</sup>);
- 2 группа. Доза ФС 1,25 мг/кг ( $Ps=0,51$  Вт/см<sup>2</sup>);
- 3 группа. Доза ФС 2,5 мг/кг ( $Ps=0,28$  Вт/см<sup>2</sup>);
- 4 группа. Доза ФС 2,5 мг/кг ( $Ps=0,51$  Вт/см<sup>2</sup>).

Контроль – мыши-опухоленосители без воздействия.

Животные при облучении находились под общим тиопенталовым наркозом с интраперитонеальным введением 1,25% раствора по 0,05 мл на мышь (20 г).

Источником лазерного излучения служил полупроводниковый лазерный аппарат «Аткус-2» производства ЗАО «Полупроводниковые приборы» (Санкт-Петербург) с длиной волны излучения  $662\pm 1$  нм. Диаметр светового пятна составлял 1,0 см.

Объём опухоли измеряли: до проведения ФДТ ( $V_0$ ) и на 3, 7, 10, 14, и 21 сутки ( $V_t$ ) после терапии.

Эффективность ФДТ оценивали по рекомендации Фармкомитета по предклинической апробации препаратов [16]:

1. По коэффициенту абсолютного прироста опухоли (K).

Для этого сначала вычисляли объёмы опухолей по формуле (1):

$$V = \frac{1}{6} \pi \cdot d_1 \cdot d_2 \cdot d_3, \quad (1)$$

где  $d_1$ ,  $d_2$ ,  $d_3$  – три взаимно перпендикулярные диаметры опухоли;  $V$  – объём опухоли в см<sup>3</sup>.

Коэффициент абсолютного прироста опухоли (К) рассчитываем по формуле (2):

$$K = \frac{V_t - V_o}{V_o}, \quad (2)$$

где  $V_o$  – объём опухоли до воздействия;  $V_t$  – объём опухоли на определённый срок наблюдения.

2. По торможению роста опухоли (ТРО%). ТРО вычисляли по формуле:

$$ТРО\% = \frac{V_k - V_o}{V_k} \cdot 100\%, \quad (3)$$

где  $V_k$  – средний объём опухоли в контрольной группе;  $V_o$  – средний объём опухоли в опытной группе.

3. По проценту животных в группе с полной регрессией (ПР%) опухоли (К=-1,00). За полную регрессию опухоли принимали отсутствие видимой и пальпируемой опухоли.

4. По средней продолжительности жизни животных в группе (СПЖ) и увеличению продолжительности жизни (УПЖ%) по сравнению с контролем. Значимое УПЖ% опытных животных по сравнению с контролем более 50%.

$$УПЖ\% = \frac{СПЖ(опыт) - СПЖ(контроль)}{СПЖ(опыт)} \cdot 100\%. \quad (4)$$

5. По критерию излеченности животных – отсутствие рецидивирования опухоли в течение 90 суток после ФДТ.

Статистическую обработку результатов исследований проводили в компьютерной программе «Statistica 6» непараметрическими методами для независимых групп (описательная статистика и значимость различий признаков в группах методом U теста Манна-Уитни при уровне  $p < 0,05$ ).

## Результаты исследования

### *Изучение динамики накопления ФС в опухоли и здоровой ткани*

Нами был определён спектр флуоресценции поглощения препарата липосомального борированного хлорина е6 (рис. 2).

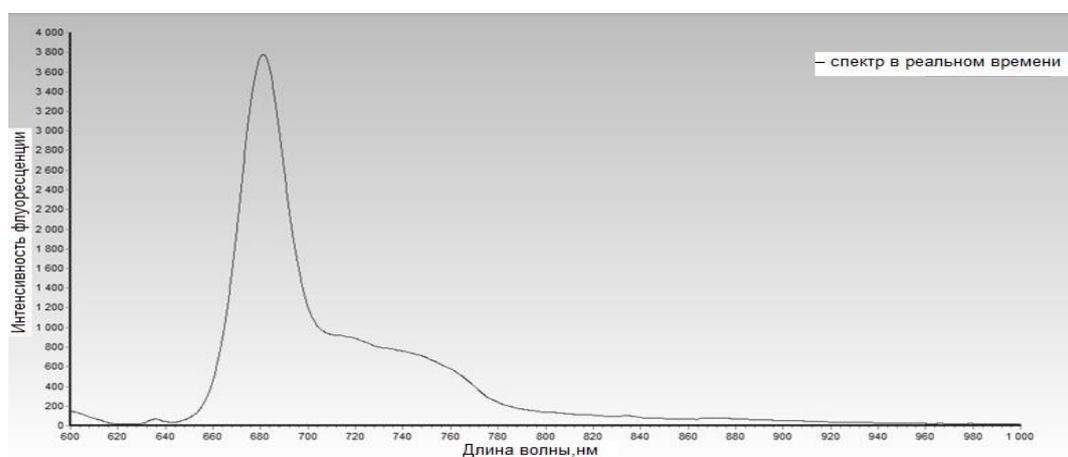
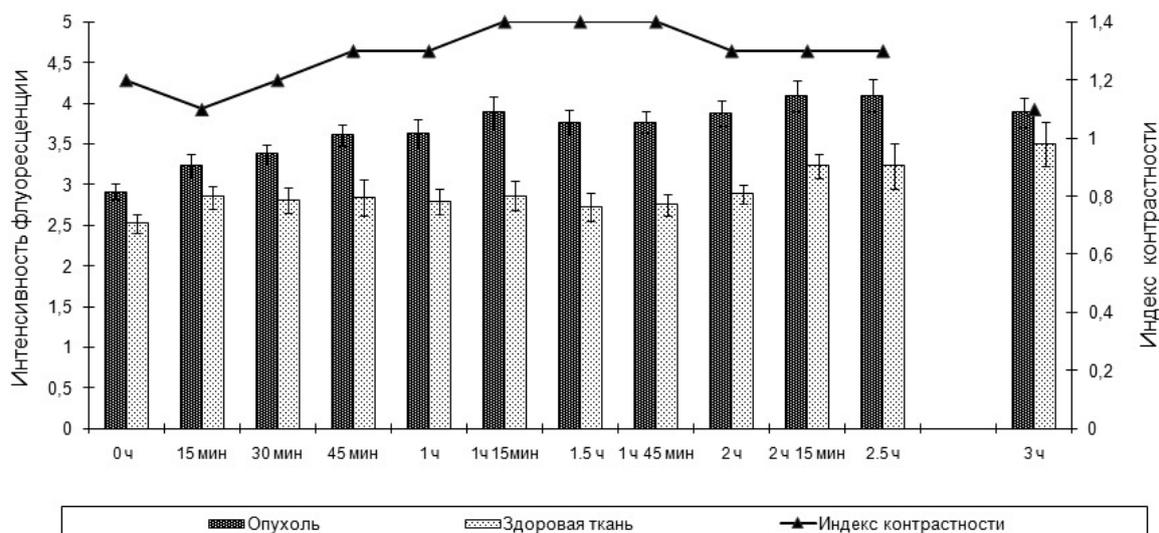


Рис. 2. Спектр флуоресценции липосомального борированного хлорина е6.



**Рис. 3.** Динамика уровня накопления и индекса контрастности фотосенсибилизатора липосомального борированного хлорина е6 в опухоли и здоровой ткани мышей с карциномой Эрлиха после интраперитонеального введения в дозе 2,5 мг/кг массы животного.

На рис. 3 представлена интенсивность флуоресценции липосомального борированного хлорина е6. После внутрибрюшинного введения липосомального борированного хлорина е6 в дозе 2,5 мг/кг в течение 2,5 ч происходит постепенное увеличение уровня накопления его как в опухоли, так и в здоровой ткани. Максимальный индекс контрастности опухоль/здоровая ткань наблюдали через 1 ч 15 мин – 1 ч 45 мин. Таким образом, именно это время оптимально для проведения ФДТ после интраперитонеального введения липосомального борированного хлорина е6 (значительная концентрация ФС в опухоли и малое его содержание в здоровой ткани).

### **Изучение эффективности ФДТ**

Исследования были проведены на 52 беспородных мышях.

На 3 сутки после фотодинамического воздействия с липосомальным борированным хлорином е6 у всех животных отмечали отёк и корочки различной плотности. Через 7 дней после ФДТ у животных на месте воздействия наблюдали плотный струп с чёткой демаркационной линией между окружающей кожей и некротизированной тканью новообразования.

После ФДТ с ФС в дозе 0,7 и 1,25 мг/кг (группы 1 и 2) с параметрами лазерного излучения  $E=100 \text{ Дж/см}^2$  и  $P_s=0,51 \text{ Вт/см}^2$  у большинства животных наблюдали продолжение роста опухоли. Полная регрессия опухоли на 21 сутки составила 16,7% (группа 1) и 40% (группа 2). При увеличении дозы ФС до 2,5 мг/кг,  $E=100 \text{ Дж/см}^2$  и  $P_s=0,28 \text{ Вт/см}^2$  процент полной регрессии опухоли на 21 сутки после терапии составил 60% (группа 3). В этих группах у крыс с ростом неоплазий на протяжении 21 суток после ФДТ отмечалось достоверное снижение коэффициента прироста опухоли по сравнению с контролем и высокий уровень ТРО% (табл. 1).

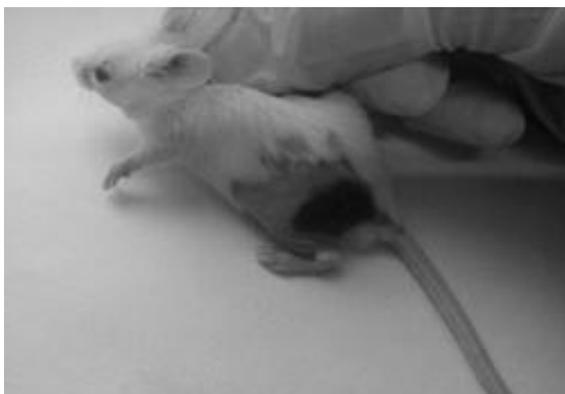
При той же дозе ФС 2,5 мг/кг,  $E=100 \text{ Дж/см}^2$ , но  $P_s=0,51 \text{ Вт/см}^2$  получили полную регрессию опухоли в 100% случаев в течение 21 суток после терапии – группа 4 (рис. 4-11).



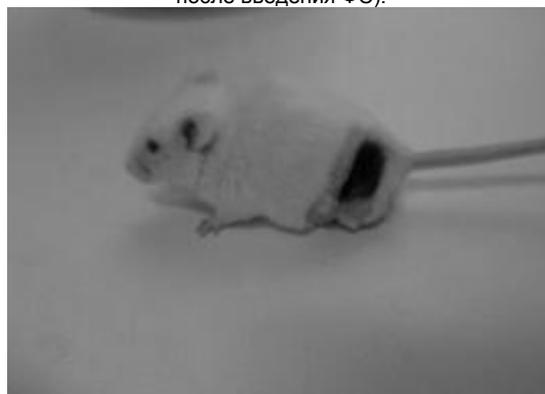
**Рис. 4.** Карцинома Эрлиха до проведения ФДТ.



**Рис. 5.** ФДТ (облучение лазером через 1,5 ч после введения ФС).



**Рис. 6.** Отёк и некроз тканей. Образование корочки на 3 сутки после ФДТ.



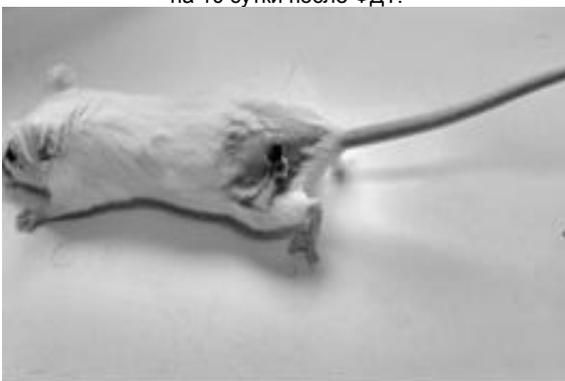
**Рис. 7.** 7 сутки после ФДТ. Некроз опухоли. Утолщение корки.



**Рис. 8.** Начало заживления, отторжение корки на 10 сутки после ФДТ.



**Рис. 9.** 14 сутки после ФДТ. Заживление и уменьшение площади некроза.



**Рис. 10.** 21 сутки после ФДТ.



**Рис. 11.** 90 сутки после ФДТ. Излечение.

Затем мышей оставили на 3 месяца для определения СПЖ и УПЖ (табл. 2) и регистрации возможных рецидивов опухоли и для определения процента излеченных животных после терапии. На 90 суток после ФДТ процент излеченных животных составил в группах 1 и 2 – 16,7%; в группе 3 – 40% и в группе 4 – 80% (табл. 1).

Таблица 1  
Показатели противоопухолевой эффективности ФДТ с интраперитонеальным введением фотосенсибилизатора липосомального борированного хлорина е6 в разных дозах и при различных плотностях мощности лазерного излучения (плотность энергии 100 Дж/см<sup>2</sup>)

№ группы	Схема опыта	Срок наблюдений, сут						
		3	7	10	14	21	90	
1	0,7 мг/кг 0,51 Вт/см <sup>2</sup>	(1) 0,10±0,01 (2) 0,40±0,36* (3) 64,6 (4) 50	(1) 0,15±0,03 (2) 1,37±0,42* (3) 68,3 (4) 33,3	(1) 0,15±0,03 (2) 1,37±0,42* (3) 68,3 (4) 33,3	(1) 0,15±0,04 (2) 1,89±0,27* (3) 89,9 (4) 33,3	(1) 0,45±0,18 (2) 4,93±2,24* (3) 81,9 (4) 16,7	(5) 16,7%	
2	1,25 мг/кг 0,51 Вт/см <sup>2</sup>	(1) 0,07±0,02 (2) 0,12±0,27* (3) 74,1 (4) 60	(1) 0,10±0,01 (2) 0,58±,10* (3) 78,5 (4) 60	(1) 0,13±0,01 (2) 1,00±0,02* (3) 85,5 (4) 60	(1) 0,20±0,03 (2) 2,04±0,42* (3) 87,2 (4) 60	(1) 0,28±0,11 (2) 3,32±1,71* (3) 88,8 (4) 40	(5) 16,7%	
3	2,5 мг/кг 0,28 Вт/см <sup>2</sup>	(4) 100				(1) 0,18±0,01 (2) 1,33±0,10* (3) 88,6 (4) 80	(1) 0,27±0,11 (2) 6,76±0,49* (3) 89 (4) 60	(5) 40%
4	2,5 мг/кг 0,51 Вт/см <sup>2</sup>	(4) 100					(5) 80%	
Контроль	K	0,27±0,04	0,47±0,07	0,88±0,26	1,53±0,65	2,48±0,75	–	
	V	2,44±0,64	4,43±0,96	7,87±1,83	15,41±5,03	32,32±12,55		

Примечание: (1) – объём опухоли (V, см<sup>3</sup>); (2) – коэффициент прироста опухоли у животных с продолженным ростом (K); (3) – торможение роста опухоли (ТРО,%); (4) – процент животных с полной регрессией опухоли (ПР); (5) – процент излеченных животных; \* p<0,05 по сравнению с контролем.

Таблица 2  
Средняя продолжительность жизни (СПЖ, сут) и увеличение продолжительности жизни (УПЖ, %) после ФДТ карциномы Эрлиха у мышей с продолженным ростом опухоли в сравнении с контролем

№	Параметры опыта	Средняя продолжительность жизни (СПЖ)	Увеличение продолжительности жизни (УПЖ)
1	Доза ФС 0,70 мг/кг, Ps=0,51 Вт/см <sup>2</sup>	58,4±2,8	16,6%
2	Доза ФС 1,25 мг/кг, Ps=0,51 Вт/см <sup>2</sup>	61,5±3,0	22,8%
3	Доза ФС 2,5 мг/кг, Ps=0,28 Вт/см <sup>2</sup>	59,5±4,3	18,2%
4	Доза ФС 2,5 мг/кг, Ps=0,51 Вт/см <sup>2</sup>	65,9±1,0	31,5%
Контроль		50,1±4,1	–

Из табл. 2 видно, что терапия увеличивает продолжительность жизни животных от 16,6 до 31,5% в зависимости от параметров воздействия.

Таким образом, ФДТ с ФС липосомальным борированным хлорином е6 является высокоэффективным методом лечения карциномы Эрлиха мышей.

### Заключение

Результаты проведённых нами исследований показали, что новый отечественный фотосенсибилизатор – липосомальный борированный хлорин е6 – обладает высокой противоопухолевой активностью *in vivo* для ФДТ карциномы Эрлиха. Эффективность ФДТ зависит от дозы фотосенсибилизатора и параметров лазерного воздействия. Проведение ФДТ через 1 ч 15 мин – 1 ч 45 мин после введения ФС в дозе 2,5 мг/кг и с параметрами лазерного воздействия (E=100 Дж/см<sup>2</sup> и Ps=0,51 Вт/см<sup>2</sup>) позволяет достичь полной регрессии опухолевых узлов и отсутствия их рецидивирования у 80% животных на протяжении трёх месяцев наблюдений.

## Литература

1. **Филоненко Е.В., Серова Л.Г.** Фотодинамическая терапия в клинической практике //Biomedical Photonics. 2016. Т. 5, № 2. С. 26-37.
2. **Филоненко Е.В.** Флюоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия – обоснование применения и возможности в онкологии //Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. 2014. Т. 3, № 1. С. 3-7.
3. **Странадко Е.Ф.** Основные этапы развития и современное состояние ФДТ в России //Biomedical photonics. 2014. Т. 3, № 1. С. 3-7.
4. **Абакушина Е.В., Романко Ю.С., Каплан М.А., Каприн А.Д.** Противоопухолевый иммунный ответ и фотодинамическая терапия //Радиация и риск. 2014. Т. 23, № 4. С. 92-98.
5. **Лукьянец Е.А.** Поиск новых фотосенсибилизаторов для фотодинамической терапии //Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. 2013. Т. 2, № 3. С. 3-16.
6. **Zhang J., Jiang C., Figueiró Longo J.P., Azevedo R.B., Zhang H., Muehlmann L.A.** An updated overview on the development of new photosensitizers for anticancer photodynamic therapy //Acta Pharm. Sin. B. 2018. V. 8, N 2. P. 137-146.
7. **Asano R., Nagami A., Fukumoto Y., Miura K., Yazama F., Ito H., Sakata I., Tai A.** Synthesis and biological evaluation of new boron-containing chlorin derivatives as agents for both photodynamic therapy and boron neutron capture therapy of cancer //Bioorg. Med. Chem. Lett. 2014. V. 24, N 5. P. 1339-1343.
8. **Nikitina R.G., Kaplan M.A., Olshevskaya V.A., Rodina J.S., Drozhzhina V.V., Morozova T.G.** Photodynamic therapy with boronated chlorin as a photosensitizer //J. Cancer Sci. Ther. 2011. V. 9, N 3. P. 216-219.
9. **Райков А.О., Хашем А., Барышникова М.А.** Липосомы для направленной доставки противоопухолевых препаратов //Российский биотерапевтический журнал. 2015. Т.15, № 2. С. 90-96.
10. **Weijer R., Broekgaarden M., Kos M., van Vught R., Rauws E.A.J., Breukink E., van Gulik T.M., Storm G., Heger M.** Enhancing photodynamic therapy of refractory solid cancers: Combining second-generation photosensitizers with multi-targeted liposomal delivery //J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev. 2015. V. 23. P. 103-131.
11. **Дмитриева М.В., Оборотова Н.А., Орлова О.Л., Полозкова А.П., Агапов И.И., Кирпичников М.П.** Липосомальная лекарственная форма борхлорина //Российский биотерапевтический журнал. 2014. Т. 13, № 1. С. 31-36.
12. **Мачинская Е.А., Иванова-Радкевич В.И.** Обзор механизмов селективного накопления фотосенсибилизаторов различной химической структуры в опухолевой ткани //Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. 2013. Т. 2, № 4. С. 28-32.
13. **Круглякова А.А.** Особенности фармакокинетики липосомальных препаратов //Разработка и регистрация лекарственных средств. 2012. № 1. С. 37-40.
14. **Лощенов В.Б., Линьков К.Г., Савельева Т.А., Лощенов М.В., Модель С.С., Бородкин А.В.** Аппаратурное и инструментальное обеспечение флюоресцентной диагностики и ФДТ //Фотодинамическая терапия и фотодиагностика. 2013. Т. 4, № 3. С. 17-25.
15. **Бурмистрова Н.В., Дрожжина В.В., Каплан М.А., Южаков В.В., Бандурко Л.Н., Цыганова М.Г., Иванов С.А., Архипова Л.М., Абрамова О.Б.** Изучение эффективности фотодинамической терапии карциномы Эрлиха мышей с внутривенным введением фотосенсибилизатора липосомального борированного хлорина //Радиация и риск. 2019. Т. 28, № 4. С. 96-107.
16. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. М.: Гриф и К, 2012. С. 640-670.

## Photodynamic therapy of Ehrlich carcinoma in mice with liposomal boronated chlorin e6

Abramova O.B., Drozhzhina V.V., Churikova T.P., Beregovskaya E.A., Kaplan M.A., Ivanov S.A., Kaprin A.D.<sup>1</sup>

A. Tsyb MRRC, Obninsk;

<sup>1</sup> NMRRC Russian Ministry of Health, Moscow

This paper reports results of estimating effectiveness of the liposomal boronated chlorin e6 photosensitizer for photodynamic therapy. For the study Ehrlich carcinoma-bearing mice were used as a model. Pharmacokinetics of the photosensitizer, its accumulation in tumor and other organs and tissues was studied to determine the optimal time interval between chlorin e6 administration and laser irradiation. Effectiveness of the treatment was evaluated by the following parameters: completeness of tumor regression (%); tumor absolute growth rate in mice with the continued tumor growth; life expectancy increase (%) in tumor-bearing mice compared to the control animals; evidence of tumor recurrence during 90 days after the treatment. The study revealed high antitumor effect of photodynamic therapy with liposomal boronated chlorin e6 photosensitizer on Ehrlich carcinoma in mice. The treatment performed within the optimal time interval between the photosensitizer administration and PDT produces the highest inhibiting effect on tumor.

**Key words:** *photodynamic therapy, Ehrlich carcinoma, photosensitizer, accumulation dynamics, contrast index, laser, tumor growth inhibition, complete tumor regression, increase in life expectancy, treatment.*

### References

1. **Filonenko E.V., Serova L.G.** Photodynamic therapy in clinical practice. *Biomedical Photonics*, 2016, vol. 5, no 2, pp. 26-37. (In Russian).
2. **Filonenko E.V.** Fluorescent diagnostics and photodynamic therapy – justification of application and possibilities in oncology. *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika – Photodynamic Therapy and Photodiagnosics*, 2014, vol. 3, no. 1, pp. 3-7. (In Russian).
3. **Stranadko E.F.** The main stages of development and the current state of PDT in Russia. *Biomedical photonics*, 2014, vol. 3, no. 1, pp. 3-7. (In Russian).
4. **Abakushina E.V., Romanko Yu.S., Kaplan M.A., Kaprin A.D.** Antitumor immune response and photodynamic therapy. *Radiaciya i risk – Radiation and Risk*, 2014, vol. 23, no. 4, pp. 92-98. (In Russian).
5. **Lukyanets E.A.** Search for new photosensitizers for photodynamic therapy. *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika – Photodynamic Therapy and Photodiagnosics*, 2013, vol. 2, no. 3, pp. 3-16. (In Russian).
6. **Zhang J., Jiang C., Figueiró Longo J.P., Azevedo R.B., Zhang H., Muehlmann L.A.** An updated overview on the development of new photosensitizers for anticancer photodynamic therapy. *Acta Pharm. Sin. B*, 2018, vol. 8, no. 2, pp. 137-146.
7. **Asano R., Nagami A., Fukumoto Y., Miura K., Yazama F., Ito H., Sakata I., Tai A.** Synthesis and biological evaluation of new boron-containing chlorin derivatives as agents for both photodynamic therapy and boron neutron capture therapy of cancer. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2014, vol. 24, no. 5, pp. 1339-1343.
8. **Nikitina R.G., Kaplan M.A., Olshevskaya V.A., Rodina J.S., Drozhzhina V.V., Morozova T.G.** Photodynamic therapy with boronated chlorin as a photosensitizer. *J. Cancer Sci. Ther.*, 2011, vol. 9, no. 3, pp. 216-219.

**Abramova O.B.\*** – Head Lab., C. Sc., Med.; **Drozhzhina V.V.** – Researcher; **Churikova T.P.** – Researcher Assistant; **Beregovskaya E.A.** – Research Assistant; **Kaplan M.A.** – Head of Dep., MD, Prof.; **Ivanov S.A.** – Director, MD, Prof. A. Tsyb MRRC. **Kaprin A.D.** – General Director, Academician of RAS, MD, Prof. NMRRC.

\*Contacts: 4 Korolyov str., Obninsk, Kaluga region, Russia, 249035. Tel.: 8 (910) 510-08-62; e-mail: olyabramova@gmail.com.

9. **Raikov A.O., Hashem A., Baryshnikova M.A.** Liposomes for the targeted delivery of antitumor drugs. *Rossiiskij bioterapevticheskij zhurnal – Russian Journal of Biotherapy*, 2016, vol. 15, no. 2, pp. 90-96. (In Russian).
10. **Weijer R., Broekgaarden M., Kos M., Van Vught R., Rauws A.J., Breukink E., Van Gulik T.M., Storm G., Heger M.** Enhancing photodynamic therapy of refractory solid cancers: Combining second-generation photosensitizers with multi-targeted liposomal delivery. *J. Photochem. Photobiol. C: Photochem. Rev.*, 2015, vol. 23, pp. 103-131.
11. **Dmitrieva M.V., Oborotova N.A., Orlova O.L., Polozkova A.P., Agapov I.I., Kirpichnikov M.P.** Liposomal dosage form of borchlorin. *Rossiiskij bioterapevticheskij zhurnal – Russian Biotherapeutic Journal*, 2014, vol. 13, no. 1, pp. 31-36. (In Russian).
12. **Machinskaya EA, Ivanova-Radkevich V.I.** A review of the mechanisms of selective accumulation of photosensitizers of various chemical structures in tumor tissue. *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika – Photodynamic Therapy and Photodiagnosics*, 2013, vol. 2, no. 4, pp. 28-32. (In Russian).
13. **Kruglyakova A.A.** Features of the pharmacokinetics of liposomal drugs. *Razrabotka i registraciya lekarstvennyh sredstv – Development and Registration of Medicines*, 2012, no. 1, pp. 37-40. (In Russian).
14. **Loshchenov V.B., Linkov K.G., Savelyeva T.A., Loshchenov M.V., Model S.S., Borodkin A.V.** Hardware and instrumentation of fluorescence diagnostics and PDT. *Fotodinamicheskaya terapiya i fotodiagnostika – Photodynamic Therapy and Photodiagnosics*, 2013, vol. 4, no. 3, pp. 17-25. (In Russian).
15. **Burmistrova N.V., Drozhzhina V.V., Kaplan M.A., Yuzhakov V.V., Bandurko L.N., Tsyganova M.G., Ivanov S.A., Arkhipova L.M., Abramova O.B.** Study of efficiency of photodynamic therapy of Earlich carcinoma micewith intravenous introduction of photosensibilizer of liposomal boronated chlorin e6. *Radiaciya i risk – Radiation and Risk*, 2019, vol. 28, no. 4, pp. 96-107. (In Russian).
16. Guidelines for preclinical studies of drugs. Part 1. Moscow, Grif and K, 2012, pp. 640-670. (In Russian).