

УДК 616-006.3.04-092.9-085.849-059:615.831

I.S. Spichenkova, M.A. Kaplan, N.I. Sokol

COMBINATION OF PHOTODYNAMIC THERAPY AND RADIOTHERAPY IN TREATMENT OF EXPERIMENTAL TUMORS (SARCOMA M-1) IN RATS

Medical Radiological Research Center RAMS, Obninsk

ABSTRACT

Photodynamic therapy combined with radiotherapy gives the opportunity to improve results of treatment. We can also decrease doses of x-ray irradiation by such method of treatment.

Key words: photodynamic therapy (PDT), experimental tumors, combined treatment, Sarcoma M-1.

И.С. Спиченкова, М.А. Каплан, Н.И. Сокол

КОМБИНИРОВАННАЯ ЛУЧЕВАЯ И ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОПУХОЛИ САРКОМЫ М-1 У КРЫС

Медицинский радиологический научный центр РАМН, Обнинск

РЕЗЮМЕ

Комбинирование фотодинамической терапии с лучевой дает возможность улучшить результаты лечения, а также уменьшить дозу облучения при лучевой терапии.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, саркома М-1, экспериментальные опухоли, комбинированные методы.

ВВЕДЕНИЕ

В основе лечебного применения ионизирующих излучений лежит их биологическое действие. По своему характеру оно всегда повреждающее и выражается в функциональных сдвигах и анатомических изменениях в облучаемых органах и во всем организме. Степень повреждений, возникающих в связи с облучением, различна. Небольшие повреждения приводят к усилению регенеративных способностей тканей и в определенных ситуациях (нормализации нарушенных функций), тогда как значительные повреждения обуславливают такие изменения, за которыми следуют дистрофические процессы и гибель клеток и тканей [4]. Современная рентгенорадиологическая техника дает возможность воздействовать на опухоль, расположенную как поверхностно, так и на любой глубине. При этом для ее уничтожения применяются нередко очень высокие дозы облучения, и окружающие опухоль здоровые ткани неизбежно испытывают ту или иную лучевую нагрузку, которая иногда может превысить их толерантность [1]. Лучевые реакции возникают из-за малого интервала различий в радиочувствительности

опухоли и окружающих ее здоровых тканей и поэтому являются неизбежным спутником лучевого лечения. Радикальная лучевая терапия в ряде случаев может приводить к местным лучевым повреждениям. По данным Бардычева М. С. (1988), их частота достигает 10%. На практике приходится наблюдать подкожные лучевые склерозы, некрозы, язвы, пневмониты, энтероколиты, ректосигмоидиты, лучевые дистрофические повреждения костей, отек конечностей в результате расстройства крово- и лимфообращения, лучевой миелит [1; 4]. Уменьшить лучевые повреждения окружающих опухоль здоровых тканей можно путем уменьшения применяемых суммарных доз облучения. Такую возможность может дать комбинация лучевой терапии с каким-либо другим методом лечения злокачественных опухолей.

Среди современных лазерных технологий, используемых в онкологии, особое место принадлежит фотодинамической терапии (ФДТ), основанной на способности определенных фотосенсибилизаторов с макроциклической химической структурой селективно накапливаться в опухолевой ткани. При этом квант света определенной длины волны, взаимодействуя с фо-

тосенсибилизатором в присутствии кислорода тканей, вызывает фотохимическую реакцию, приводящую к гибели опухолевых клеток [6; 11; 13; 16; 17]. Механизм цитотоксичности заключен в генерировании синглетного кислорода и свободных радикалов, когда возбужденный светом сенсибилизатор теряет или приобретает электроны [9; 19]. Такая дифференцированная цитотоксичность выгодно отличает ФДТ от традиционных методов противоопухолевой терапии [8; 11; 18]. Поэтому ФДТ может стать очень привлекательным дополнительным средством лечения опухолей мягких тканей, т.к. это минимально инвазивное средство с потенциально высокой эффективностью, которое можно сочетать с другими методами лечения, например, с лучевой терапией для повышения эффективности последней [3; 7]. Имеется ряд публикаций о применении ФДТ в клинике для лечения злокачественных опухолей [5; 6; 7; 8; 12; 13; 14; 16; 18; 19; 21].

Идея совместного применения лучевой и фотодинамической терапии в настоящее время рассматривается рядом авторов как в эксперименте [15; 20], так и в клинике [10; 12].

Целью этой работы являлось изучение возможности комбинации фотодинамической терапии с лучевой для повышения эффективности лечения и снижения суммарной дозы облучения при лучевой терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования были проведены на 59 самках беспородных крыс, достигших массы тела 130–200 г, которым под кожу бедра перевивалась опухоль — саркома М-1. Данный штамм опухоли относится к числу быстрорастущих с достаточно коротким инкубационным периодом; отличается большой биомассой и высокой степенью перевиваемости; не образует метастазов [1]. Животных брали в опыт на 8–18-е сутки после перевивки, когда объем опухоли V достигал 0,12–0,73 см³. Он рассчитывался по формуле:

$$V = 1/6 \times d_1 \times d_2 \times d_3,$$

где:

$d_{1,2,3}$ — три взаимно перпендикулярных размера опухоли. Замеры диаметров опухоли производились в следующие сроки: исходные (непосредственно перед лечением), на 7-е; 10-е; 14-е и 21-е сутки после лечения. Динамику роста опухоли определяли по коэффициенту прироста (торможения) роста опухоли K по формуле:

$$K = (V_1 - V_0) / V_0,$$

где:

V_0 — исходный объем опухоли;

V_1 — объем опухоли на день измерения.

Динамика K оценивалась следующим образом.

1. При $K > 0$ (объем опухоли на соответствующие сроки наблюдения превышал ее исходный объем) ситуация расценивалась как продолженный рост опухоли.

2. При $-1 < K \leq 0$ (объем опухоли на соответствующие сроки наблюдения меньше исходного объема опухоли или равен ему) ситуация расценивалась как торможение роста опухоли.

3. При $K = -1$ (пальпаторно опухоль не определяется) ситуация расценивалась как полная регрессия опухоли.

В качестве контроля служили животные с опухолью, которым не проводилось никакой терапии. В качестве фотосенсибилизатора использовался препарат хлоринового ряда — фотодитазин, синтезированный в Институте биомедицинской химии РАМН, г. Москва, который вводился животным внутривенно в дозе 2,5 мг/кг веса. Источником лазерного излучения служили полупроводниковые лазерные аппараты «Ламеда» (662 нм) и «Аткус-2» (666 нм). Доза световой энергии составляла 300 Дж/см². Время лазерного облучения варьировало в зависимости от диаметра поля облучения (который, в свою очередь, зависел от размера опухоли). Для близкофокусной лучевой терапии использовалась рентгеновская установка РУМ-7.

Все животные были разделены на 6 групп, в каждую из которых входило не менее 7. Первой группе было проведено однократное рентгеновское облучение в дозе 5 Гр; второй — фракционированное рентгеновское облучение в дозе 10 Гр (2 дня подряд по 5 Гр); третьей — фракционированное рентгеновское облучение в дозе 15 Гр (3 дня подряд по 5 Гр); четвертой, пятой и шестой — рентгенотерапия в таких же суммарных дозах и режимах облучения, как в первой, второй и третьей группах соответственно, но на следующий день после последнего рентгеновского облучения им также был проведен сеанс ФДТ в стандартном варианте (доза фотосенсибилизатора и световая доза указаны выше).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные результаты приведены в таблице. Из нее видно, что при изолированной рентгенотерапии в дозе 5 Гр однократно только у 2 животных из 9 на 21-е сутки наблюдения отмечена полная регрессия опухоли, у 7 животных имел место продолженный рост, хотя темпы роста опухоли были значительно ниже, чем у животных в контроле. При фракционированной рентгенотерапии в суммарной дозе 10 Гр на 21-е сутки наблюдения полная регрессия опухоли была отмечена у 6 животных из 10, что почти в 3 раза выше (в % отношении), чем при однократном рентгеновском облучении в дозе 5 Гр; у 3 животных наблюдался продолженный рост также с очень низкими темпами роста опухолей по сравнению с контролем; и у 1 животного — торможение роста опухоли. И, наконец, при фракционированном 3-кратном облучении в суммарной дозе 15 Гр на 7-е; 10-е; 14-е сутки у всех животных в группе наблюдалась полная регрессия опухоли, и лишь на 21-е сутки у 2 из 12 животных отмечен незначительный продолженный рост опухолей.

При однократном рентгеновском облучении в дозе 5 Гр в сочетании с ФДТ на 7-е — 10-е сутки наблюдалось улучшение результатов лечения — у 5 из 11 животных отмечена полная регрессия опухоли, однако к 21-м суткам наблюдения результаты лечения мало отличаются от результатов в группе животных с изолированным рентгеновским облучением в той же дозе. Применение же ФДТ после фракционированной рентгенотерапии — после 2-кратного в суммарной дозе 10 Гр и 3-кратного в суммарной дозе 15 Гр рентгеновского облучения значительно улучшает результаты лечения — начиная с 10-х суток и до конца наблюдения, в

Лучевая и комбинированная (лучевая+ФДТ) терапия экспериментальной опухоли саркомы М-1

Доза лучевой терапии, Гр и ФДТ	Число наблюдений, n	Показа- тели*	Сроки наблюдений			
			7-е сутки	10-е сутки	14-е сутки	21-е сутки
5 Гр	9	1.	11,11	33,33	22,22	22,22
		2.	66,67	44,44	55,55	77,78
		3.	0,96±0,26	0,87±0,43	3,18±0,98	5,12±1,27
		4.	22,22	22,22	22,22	—
		5.	— 0,60±0,17	— 0,46±0,28	— 0,28±0,14	—
5 Гр + 5 Гр	10	1.	—	Измерения не производились	40,0	60,0
		2.	90,0		30,0	30,0
		3.	0,48±0,08		0,40±0,14	3,32±0,88
		4.	10,0		30,0	10,0
		5.	0,00		— 0,49±0,22	— 0,25
5 Гр + 5 Гр + 5 Гр	12	1.	100,0	100,0	100,0	83,33
		2.	—	—	—	16,67
		3.	—	—	—	0,94±0,1
		4.	—	—	—	—
		5.	—	—	—	—
5 Гр + ФТД	11	1.	63,64	54,54	45,45	36,36
		2.	27,27	36,36	54,54	63,64
		3.	0,93±0,39	2,30±0,54	3,83±0,90	15,47±7,99
		4.	9,09	9,09	—	—
		5.	— 0,61	— 0,38	—	—
5 Гр + 5 Гр + ФТД	10	1.	90,0	100,0	100,0	100,0
		2.	10,0	—	—	—
		3.	0,37±0,55	—	—	—
		4.	—	—	—	—
		5.	—	—	—	—
5 Гр + 5 Гр + 5 Гр + ФТД	7	1.	100,0	100,0	100,0	100,0
		2.	—	—	—	—
		3.	—	—	—	—
		4.	—	—	—	—
		5.	—	—	—	—
Контроль n=36						
К прироста			8,42±0,69	18,03±2,84	45,85±6,46	76,73±8,62
* Показатели:						
1. Полная регрессия опухоли (%).						
2. Продолженный рост (%).						
3. Коэффициент прироста опухоли (K±m).						
4. Торможение роста опухоли (%).						
5. Коэффициент торможения роста опухоли (K±m).						

обоих случаях наблюдалась полная регрессия опухолей у всех животных.

ВЫВОДЫ

Комбинация рентгенотерапии с ФДТ дает возможность уменьшить дозу применяемого ионизирующего излучения. Фракционированная рентгенотерапия в суммарной дозе 10 Гр в сочетании с ФДТ дает полную регрессию опухолей у всех животных уже с 10-х суток наблюдения и является оптимальной. Этот результат значительно лучше, чем фракционированная рентгенотерапия в той же дозе без применения ФДТ, которая дает лишь снижение темпов роста опухолей по сравнению с контролем.

Таким образом, комбинация лучевой и фотодинамической терапии весьма перспективна и, возможно, позволит в дальнейшем разработать соответствующую методику лечения злокачественных опухолей мягких тканей в клинике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бардычев М. С., Цыб А. Ф. Местные лучевые повреждения. — М.: Медицина, 1985. — 239 с.
2. Гаркуша Н. Ф., Гончарова Н. Ю. Характеристики саркомы М-1 крыс // Биологические науки. — 1990. — № 6. — С.154-159.
3. Каплан М. А., Никитина Р. Г., Романко Ю. С. и др. Фотодинамическая терапия саркомы М-1 у эксперименталь-

- ных животных // Лазерная медицина. — 1998. — Т. 2 — Вып. 2-3. — С. 38-42.
4. Линденбратен Л. Д., Королук И. П. Медицинская радиология (основы лучевой диагностики и лучевой терапии). — М.: Медицина, 2000. — 544 с.
 5. Странадо Е.Ф., Маркичев Н.А., Рябов М.В. Фотодинамическая терапия при раке слизистой оболочки полости рта, языка и нижней губы: Методические рекомендации № 99/79. — М.: Губернская медицина, 2002 — 32 С.
 6. Странадо Е.Ф. Исторический очерк развития фотодинамической терапии: Обзор // Лазерная медицина. — 2002. — Т. 6. — Вып. 1. — С. 4-8.
 7. Цыб А.Ф., Каплан М.А. Возможности и перспективы применения фотодинамической терапии // Российские медицинские вести. — 2002. — Т. 7, № 2. — С. 19-25.
 8. Цыб А.Ф., Каплан М.А., Молочков В.А. и др. О применении фотодинамической терапии в лечении солитарных и множественных базалиом // Российский журнал кожных и венерологических болезней. — 2000. — № 4. — С.4-12.
 9. Шинкаренко Н.В., Алесковский В.Б. Химические свойства синглетного молекулярного кислорода и значение его в биологических системах // Успехи химии. — 1982. — Т. LI, № 5. — С. 719-735.
 10. Allman R., Cowburn P., Mason M. Effect of photodynamic therapy in combination with ionizing radiation on human squamous cell carcinoma cell lines of the head and neck // Br. J. Cancer. — 2000. — Vol. 83. — P.655-661.
 11. Bugelski P.J., Porter C.W., Dougherty T.J. Autoradiographic distribution of hematoporphyrin derivative in normal and tumor tissue of the mouse // Cancer Res. — 1981. — Vol. 41. — P. 4606-4612.
 12. Corti L., Skarlatos J., Boso C. et al. Outcome of patients receiving photodynamic therapy for early esophageal cancer // Int. J. Radial. Oncol. Biol. Phys. — 2000. — Vol. 47. — P. 419-424
 13. Dan J. Castro. Laser Phototherapy // Laryngoscope 101. — July 1991. — P. 1-8.
 14. Dougherty T.J. Photoradiation therapy for cutaneous and subcutaneous malignancies // J. Invest. Derm. — 1981. — Vol. 77. — P. 122-124.
 15. Hashiguchi S, Kusuzaki R., Murati H. et al. Acridine Orange excited by low-dose radiation has a strong cytotoxic effect on mouse osteosarcoma // Oncology. — 2002. — Vol. 62. — P. 85-93.
 16. Kennedy J.C., Pottier R.H., Pross D.C. Photodynamic therapy with endogenous protoporphyrin IX: basic principles and present clinical experience // J. Photochem. Photobiol. B. — 1990. — Vol. 6 — P. 143-148.
 17. Kohen E., Santus R., Hirschberg I.G. Photobiology. — Sandiego: London, 1995.
 18. Lipson R.L., Baldes E.J., Olsen A.M. The use of a derivative of hematoporphyrin in tumor detection // J. Nat. Cancer Inst. — 1961. — Vol. 26. — P. 1-8.
 19. Pass H.I. Photodynamic therapy in oncology: mechanisms and clinical use // J. Nat. Cancer Inst. — 1993. — Vol. 85, № 6. — P. 443-456.
 20. Schaffer M., Schaffer P.M., Jori G. et al. Radiation therapy combined with photofrin or 5 — ALA: effect on Lewis sarcoma tumor lines implanted in mice. Preliminary results // Tumori. — 2002. — Vol. 88. — P. 407-410.
 21. Thomas J. Dougherty. Editor, Proc. SPIE. Photodynamic Therapy: Mechanisms II. — 1990. — Vol. 1203. — P. 303.