
ПИСЬМО В РЕДАКЦИЮ

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПО ОПТИМИЗАЦИИ СТРАТЕГИИ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ: СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ ОПУХОЛИ САНАЗОЛОМ, ЗАЩИТА НОРМАЛЬНОЙ ТКАНИ ГЛИКОЗИДАМИ ВИТАМИНА Е И ВИТАМИНА С

V. Tsutomu Kagiya

Health Research Foundation, Japan

Одним из традиционных протоколов лучевой терапии онкологических больных является использование общепринятого режима фракционирования облучения в разовой очаговой дозе 2 Гр 5 раз в нед в течение 6 нед до суммарной очаговой дозы 60 Гр. Для повышения эффективности лучевой терапии используются радиосенсибилизаторы. С другой стороны, для избежания непосредственных побочных эффектов радиотерапии, таких как тошнота, рвота, диарея, необходима изменить режим фракционирования и уменьшить суммарную очаговую дозу облучения. Мы предлагаем новый подход для осуществления лучевой терапии с использованием радиосенсибилизатора саназола для повышения чувствительности опухоли к облучению и гликозидов витамина С и витамина Е для защиты нормальных тканей.

1. Сенсибилизация опухоли саназолом

Саназол (АК-2123) был синтезирован в университете Киото 20 лет назад как радиосенсибилизатор [9]. Y. Shibamoto et al. (1986) были опубликованы результаты сравнительного исследования *in vitro* на клетках V79 активности и токсичности 15 соединений 3-нитротриазолов (3-Nitrotriazole) с различной структурой боковой цепи для оценки их радиосенсибилизирующих свойств [21]. В 1989 г. была принята международная координационная программа по химической модификации лечения рака с использованием саназола (N-(2'-methoxethyl)-2-(3''-nitro-1''-triazole) acetamide (3-NTA-CH₂CONHC₂H₄ОСН₃), которая курировалась Фондом изучения здоровья (Киото, Япония). На основе экспериментальных результатов 18 групп исследователей, работавших в 7 странах, были проведены

клинические испытания в 12 странах 30 группами ученых, в которых приняло участие более 700 пациентов со злокачественными новообразованиями различных локализаций (данные суммированы в 1998 г. в специальном издании проф. Кагия [8]). В 2005 г. N.G. Huilgol et al. [4] представлены первые обнадеживающие результаты по изучению радиосенсибилизирующей активности саназола на 200 больных раком шейки матки III ст. в 5 странах (Индия, Пакистан, Турция, Нигерия, Шри-Ланка). Исследования проводились в рамках проекта международного агентства по атомной энергетике (МАГАТЭ).

В России были получены экспериментальные данные об иммуномодулирующей активности саназола в малых дозах (в 100 раз меньших, чем применялись для радиосенсибилизации), а именно о способности саназола активировать естественные киллерные клетки и макрофаги у мышей-опухоленосителей [1]. R. Rajagopalan et al. [16] показали, что саназол в дозе 40 мг/кг индуцирует апоптоз опухолевых клеток на таком же уровне, как гамма-терапия в РОД 2,5 Гр, а также способен усиливать индуцированный облучением апоптоз опухолевых клеток. Эти результаты свидетельствуют о способности саназола модулировать активность иммунокомпетентных клеток и программируемую гибель опухолевых клеток.

Недавно M. Sugie et al. [24] в сравнительном исследовании радиосенсибилизирующих свойств 3 соединений из класса нитроазолов: саназола, KU-285 и ниморазола – на модели клеток опухоли SCCVII *in vitro* и *in vivo* было показано преимущество саназола над другими агентами, при этом усиление эффекта составило 1,85 при внутривенном введении саназола в дозе 100 мг/кг. V.T. Kagiya et al. [7] было показано, что концентрация саназола в плазме через 10 мин

после его инъекции в дозе 100 мг/кг составила 100 мкг/мл, что сравнимо с уровнем, который наблюдал R. Shu et al. [23] у пациентов через 3 ч после перорального введения 3,1 г саназола.

С другой стороны, известно, что полный ответ солидной опухоли на лучевую терапию увеличивается с дозой облучения, изменяющейся S-образно, при этом выявлена связь с дозой химического сенсibilизатора. K. Sasai et al. [18] сообщали, что индукционная доза D0 (доза облучения, при которой достигается хотя бы минимальное уменьшение опухоли) для опухолевого штамма SCCVII составляет 59 Гр, тогда как при использовании радиосенсibilизатора SR-2508 она может быть снижена до 40 Гр, KU-2285 – до 30 Гр. Таким образом, используя данные радиосенсibilизаторов, можно снизить индукционную дозу облучения. J. Overgaard et al. [14] показали, что гипертермия, используемая в качестве радиосенсibilизирующего воздействия, позволила снизить D0 с 80 Гр до 50 Гр у больных опухолями шеи с метастазами в лимфоузлы, с 80 до 30 Гр у больных с меланомой, с 40 до 20 Гр у больных раком молочной железы. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможности снижения индукционной дозы облучения на 20–50 Гр при использовании радиосенсibilизаторов или гипертермии.

Недавно M. Koizumi et al. [11] опубликовали первые данные об использовании саназола в лечении саркомы мягких тканей, который применялся в капсулах (1 г) per os за 3 ч до лучевой терапии в РОД 2 Гр в общей сложности 10 раз на протяжении 2 нед. В результате лечения была достигнута практически полная регрессия опухоли, о чем судили по уменьшению размера опухоли и по отсутствию жизнеспособных опухолевых клеток. Приведенные выше экспериментальные и клинические данные ясно демонстрируют, что применение саназола позволяет снизить суммарную курсовую дозу и повысить полный ответ опухоли при радиотерапии.

2. Защита нормальных тканей гликозидами витаминов

Одной из важнейших проблем радиотерапии является снижение побочных эффектов, что важно не только для сохранения качества жизни больных, но и для обеспечения эскалации доз для повышения эффективности. Одним из перспективных соединений с радиопротекторным действием является синтезированный в Японии моногликозид токоферола

(Tocopherol Monoglycoside - TMG), первые сведения об эффективности которого были представлены T. Norimura et al. [13] в 1996 г. В последующие годы были получены данные о способности TMG защищать микросомальные мембраны печени [17], снижать интенсивность индуцированного гамма-облучением повреждения ДНК [15], предотвращать образование микроядер и хромосомных aberrаций в костном мозге облученных мышей M. Satyamitra et al. [19, 20]. Согласно результатам [22], при использовании TMG доза облучения, при которой погибало 50 % облученных мышей, была повышена с 6 до 6,7 Гр, при этом доза-модифицирующий фактор составил 1,12.

Н.В. Чердынцевой с соавт. были получены данные о способности TMG стимулировать пострадикационное восстановление клеток костного мозга [2]. Важными являются данные Nair et al. [12] о том, что использование TMG у мышей с экспериментальными опухолями, подвергавшимися лучевому воздействию, не снижало противоопухолевого эффекта, но существенно защищало нормальные ткани. Введение TMG в дозе 400 мг/кг интраперитонеально через 60 мин после облучения не влияло на размер опухоли фибросаркомы у мышей Swiss. Оценка повреждения ДНК в нормальной ткани методом Comet показала, что в этих условиях TMG защищал клетки печени (50,3 %), селезенки (59,6 %), костного мозга (14,4 %), крови (43,3 %), но не опухоли (-17 %). Эти результаты свидетельствуют, что TMG снижает повреждающий эффект радиации на клетки нормальных тканей, но не защищает опухоль.

Индийскими учеными были проведены клинические исследования первой фазы у больных с диссеминированными опухолями простаты и молочной железы, получавших облучение половины тела (hemibody) в РОД 6–8 Гр до суммарной очаговой дозы 30–60 Гр. Применение 1–2 г TMG перорально за 30 мин до облучения приводило к уменьшению болевого синдрома и менее выраженному снижению уровня лейкоцитов крови [3].

Было показано протекторное действие гликозида аскорбиновой кислоты (L-Ascorbic acid glycoside (AsAG, 2 ммоль/кг, 17 мг/мышь, интраперитонеально за 30 мин до облучения) у мышей, облученных в летальной дозе 7,5 Гр, при этом 10 % мышей выжило, тогда как введение аскорбиновой кислоты (AsA, 2 ммоль/кг, 8,8 мг/мышь, интраперитонеально за 30 мин до облучения) не оказывало подобного эффекта [5]. В условиях клиники M. Koizumi et al. [10] показали, что пероральный прием больными раком молочной железы с отдаленными метастазами 10 г

AsAG за 2 ч до облучения в дозе 3 Гр существенно снижал такие побочные проявления, как тошнота и диарея.

3. Преимущества стандартной радиотерапии с использованием радиосенсибилизатора саназола и радиопротекторов гликозидов витаминов С и Е

Терапевтический эффект радиотерапии повышается с увеличением дозы. Однако в связи с тем, что при высоких дозах происходит повреждение нормаль-

ных тканей, суммарная доза облучения ограничена 60 Гр. Эти ограничения можно было бы уменьшить, защищая нормальные ткани, и таким образом повысить дозу воздействия на опухоль.

Мы предлагаем оригинальный протокол сенсibilизации лучевой терапии саназолом в индукционный период, комбинированный с защитой нормальных тканей гликозидами витамина Е (TMG) или витамина С (AsAG). На основании приведенных выше данных мы полагаем, что в результате такого подхода можно повысить дозу облучения без повреждения нормальных тканей и получить более высокий ответ опухоли на облучение.

A PROPOSAL FOR A NEW STRATEGY, ON THE BASE OF THE OPTIMIZATION OF CONVENTIONAL RADIOTHERAPY – TUMOR SENSITIZATION BY SANAZOLE WITH NORMAL TISSUE PROTECTION BY VITAMIN GLYCOSIDES

V. Tsutomu Kagiya

Health Research Foundation, Japan

In conventional radiotherapy, a protocol of 2 Gy irradiation, 5 times a week, for 6 weeks (60 Gy) in total has been performed for cancer patient. Radiosensitizers have been developed in order to enhance the efficacy of radiation in the conventional radiotherapy. On the other hand, for the purpose to avoid immediate side effect of radiotherapy such as nausea, vomiting, suffer from diarrhea, radiotherapy has been obliged to limit total dose of irradiation, and to perform fractionated radiation treatment. We propose a new strategy of conventional radiotherapy, tumor sensitization by Sanazole (AK-2123) with normal tissue protection by Vitamin Glycosides.

1. Tumor Sensitization by Sanazole

20 years ago, Sanazole was developed by Kyoto University group as a radiosensitizer [9]. Y. Shibamoto et al. [21], reported about the comparison of sensitizing activity (C1.6: suitable concentration to give of Sensitizer Enhancement Ratio (SER) equal 1.6) and toxicity (Cc: suitable concentration to give the death of 50% of animals - LD50) of 15 kinds of 3-Nitrotriazole compounds with different structure of side chain in vitro using V79 tumor cells. Since 1989, International Coordinated Research

Programme on the Chemical Modification of Cancer Treatment using AK-2123 (N-(2'-methoxyethyl)-2-(3''-nitro-1''-triazole) acetamide(3-NTA-CH₂CONHC₂H₄OCH₃) was organized by Health Research Foundation(Japan) for the sensitization of cancer treatment. On the bases of the fundamental studies of 18 groups of 7 countries, various clinical studies have been performed by 30 groups of 12 countries. In these clinical studies, over 700 patients with 12 types of cancer diseases received Sanazole sensitized radiotherapy. V.T. Kagiya summarized these fundamental and clinical studies [8]. N.G. Huilgol et al. [4], reported about the results of IAEA (International Atomic Energy Agency) project of Sanazole sensitized radiotherapy performed by 5 countries including Nigeria, Turkey, India, Pakistan, Sri-Lanka in 200 patients with stage III cervix cancer.

Recently, M. Sugie et al. [24] has reported about the re-evaluation of radiosensitizer activity of 3 kinds of nitroazoles, Sanazole, KU-285 and Nimorazole in SCCVII tumor in vitro and in vivo. Data obtained point to the superiority of Sanazole in comparison to another compounds, and 1.85 of SER of Sanazole(100mg/kg) by i.v injection was shown. SER was calculated as the ratio between radiation doses without or with radiosensitizer to reach the same tumor growth delay. V.T. Kagiya et al.

[7] reported that Sanazole concentration in plasma was evaluated as 100 mg/ml at 10 min. after the injection of 100 mg/kg of Sanazole. This value was equal to 3.1g of oral administration 3 hours later to patient by clinical pharmacokinetic data reported by R. Shu et al. [23].

On the other hand, it is well known in radiation treatment of tumor that complete response rate of solid tumor increased with radiation dose showing S-shaped curve. And the curve moves to origin in parallel by chemical sensitizer. K. Sasai et al. [18], reported that the induction dose D0 (irradiation dose to give >0 % of tumor control) is 59 Gy in radiation alone, while 40 Gy with radiosensitizer SR-2508, and 30 Gy with KU-2285 in SCCVII tumor. These reports show that the use of these radiosensitizers allows to reduce D0 up to 20–30 Gy to reach the tumor growth control while the total irradiation dose of 59 Gy is needed when used without radiosensitizer. J. Overgaard et al. [14] reported that D0 for advanced neck node (80 Gy in radiotherapy alone) was reduced to 50 Gy in radiotherapy sensitized by hyperthermia, 80 Gy for malignant melanoma to 30 Gy, 40 Gy for breast carcinoma to 20 Gy, respectively. These studies show that the induction dose (D0) is reduced to 20–50 Gy by radiosensitizer or hyperthermia. On the bases of these two studies, T. Kagiya discussed the importance of boost treatment for induction dose period in sensitized cancer radiotherapy [6].

Recently, M. Koizumi et al. [11] reported on the clinical study of Sanazole sensitized radiotherapy of soft tissue sarcoma. He administered Sanazole (about 1 g) in capsule orally 3 hours before 2 Gy radiotherapy, 10 times for 2 weeks. The area of Ewing sarcoma was reduced to 3/8 and no survived tumor cells are revealed. This is the first clinical trial of induction dose period radiotherapy sensitized by oral administration of Sanazole in capsule.

A Characteristic study of immune modulatory effect of Sanazole was reported by N. Cherdyntseva et al. [1] that daily administration of small dose (1.0mg/kg) of Sanazole to mouse for 10 days resulted in 1.6 times of NK cell activation in splenocyte and 1.8 times of macrophage activity in B16-melanoma bearing mice. R. Rajagopalan et al. [16], reported that 40mg/kg of Sanazole induced apoptosis equal to that initiated by 2.5 r-irradiation and sensitized 1.2 times radiation induced apoptosis. These results showed that Sanazole is able to enhance the immune cell activity as well as the apoptosis of tumor cells.

These fundamental and clinical studies clearly demonstrated that Sanazole brings about reduction in induction dose, and lead to increase in complete response rate in cancer radiotherapy.

2. Normal Tissue Protection by Vitamin Glycosides

The side effect inhibition of radiotherapy is very important problem which is not only keeping Quality of Life (QOL) of cancer patient but also dose escalation to increase curability of cancer. 10 years ago, we started the radioprotection study. The first work was reported by T. Norimura et al. [13] about the Tocopherol Monoglycoside (TMG) radioprotector activity. Several fundamental data have been reported by V. P. Salvi et al. [17] regarding the radioprotection of liver cell microsomal membranes, and by R. Rajagopalan et al. [15]) about the inhibition of radiation induced plasmid damage of p BR322 by TMG. M. Satyamitra et al. reported that TMG protected radiation damage of micronuclei and chromosomal aberrations in bone marrow of mouse [19, 20]. R. Shimanskaya et al. [22], reported that LD 50 dose of irradiation for mouse was 6.00, while 6.72 when TMG (0.6g/kg, i.p.) was used, thus dose modifying factor of TMG was evaluated as 1.12.

N. Cherdyntseva et al. reported about the TMG ability to accelerate the hematopoietic recovery in total irradiated mice at a dose 5,7 Gy [2]. C.K. Nair et al., reviewed the TMG as a radioprotector [12]. In according to Nair study the growth of murine fibrosarcoma in tumor bearing Swiss mice was measured within 14 days. TMG at a dose of 400mg/kg was administrated by i.p. route, 60 min after 5 Gy irradiation. No TMG effect was observed on tumour growth rate. Comet assay of DNA strand break in murine tissue showed that protection of liver by TMG was equal to 50.3 %, spleen 59.6 %, bone marrow 14.4 %, blood 43.3 %, at that time tumour -17.3 %. These results clearly showed that TMG protects normal cells while sensitizes radiation-induced tumor cell damage.

N.G. Huilgol et al. [3] reported the results of A phase I trial of TMG in hemi-body radiotherapy of 6–8 Gy, 30–50 Gy in total for prostate and breast cancer patients with disseminated tumor. He gave 1–2g of TMG orally, 30 min before irradiation, and resulted in the adequate pain relief without significant drop of white blood cells.

No effect of L-Ascorbic acid (AsA, at a dose of 2 mmol/kg, 8,8 mg/mouse, i.p. 30 min before irradiation) was observed in i.p. injection on the 30 days survival rate of mice exposed to lethal dose (7.5 Gy) of whole body irradiation, while 10 % of survivors were observed in mice, received L-Ascorbic acid glycoside (AsAG, 2 mmol/kg, 17 mg/mouse, i.p. 30 min before irradiation) [5]. M. Koizumi et al. [10], reported that oral administration of AsAG (10g), 2 hrs before 3 Gy radiotherapy of cancer patients with metastasis in lumber spine and brain resulted

in the inhibition of the side effects such as nausea and diarrhea.

3. Advancement of Conventional Radiotherapy – Tumor Radiosensitization by Sanazole with Normal Tissue Radioprotection by Vitamin Glycosides.

Therapeutic effect of radiotherapy is increased by radiation dose. However, due to normal tissue damage, radiation dose is limited by about 60 Gy in total. The limitation is relieved by radioprotection of normal tissue. It means, in conventional radiotherapy, it is possible to increase radiation dose leading the curability of tumor by radioprotection of normal tissue. On the basis of these considerations, we propose new protocol of radiotherapy sensitised by sanazole orally for induction dose period in conventional radiotherapy combined with normal tissue protection by Vitamin glycosides such as TMG and AsAG. According to this strategy, it is possible to increase in the radiation dose without normal tissue injury and reach more higher tumor response in conventional radiotherapy modified by Sanazole and Vitamin Glycosides.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cherdyntseva N. et al. Effect of Radiosensitizer AK-2123 on the Activity of Natural Killer Cells and Macrophages in B-16 Melanoma Bearing Mice // Sensitization Newsletter. 1998. Vol. 5, № 1. P. 2–6.
2. Cherdyntseva N. et al. Effect of Tocopherol-monoglycosid (TMG), a Water-soluble Glycosylated Derivate of Vitamin E, on Hematopoietic Recovery in Irradiated Mice // J. Rad. Res. 2005. Vol. 46. P. 37–41.
3. Huilgol N.G. et al. A phase I trial of tocopherol monoglucoside in patient undergoing hemi-body radiation // J. Cancer Res. Ther. March, 2005. Vol. 1, Issue 1. P. 38–40.
4. Huilgol N.G. et al. AK-2123 (Sanazole) as a Radiation Sensitizer in the Treatment of Stage II Cancer Cervix; Initial Results of an IAEA Multicentre Randomized Trial // J. Cancer Res., 2005. Vol. 1, № 2. P. 75–78.
5. Ikota N. et al. Private Communication. 2005.
6. Kagiya T. Importance of Boost Treatment for Induction Dose Period in Sensitized Cancer Radiotherapy // Radiosensitization Newsletter. 1990, October. 1–5, 9–4.
7. Kagiya V.T. et al. Metabolic Rate Modification of Nitrotriazole Radiosensitizers by Sulfur Substitution of Side Chain // Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys. 1992. Vol. 22, № 3. P. 597–600.
8. Kagiya V.T. Researcher's Booklet of the Fundamental and Clinical Studies on Sanazole (AK-2123) – Pharmacology and Toxicology in Vitro and in Vivo, Pharmacokinetics in Patient, and Clinical Study in Different Malignancies: unpublished. 1998.
9. Kimura R. et al. Characteristics of Various Nitro-aromatic Compounds as Hypoxic Radiosensitizers // Radiosensitization Newsletter 1986. Vol. 5, № 1. P. 3–5. USP Patent 4, 820, 344, April, 1989.
10. Koizumi M. et al. Clinical Trial of Adverse Effect Inhibition with Glycosides of Vitamin C and Vitamin E in Radiotherapy and Chemotherapy // J. Cancer Res. Ther. 2005, Dec. Vol. 1, Issue 4. P. 39
11. Koizumi M. et al. Oral administration of Sanazole for the radiotherapy of bone and soft tissue tumor // IASCT symposium. Nara City, February 2006. Abstract p. 12.
12. Nair C.C.K. et al. Water Soluble Vitamin E (TMG) as a Radioprotector // Indian J. Exp. Biology, 2004. January. P. 42.
13. Norimura T. et al. Radioprotective Effect of Vitamin Glycosides // 39th Annual Meeting of the Japan Radiation Research Society. Osaka, 1996.
14. Overgaard J. et al. Hyperthermia Trials // Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 1988. Vol. 14, Suppl. 1. S. 93.
15. Rajagopalan R. et al. Inhibition of gamma-radiation induced DNA damage of plasmid pB322 DNA by TMG, a derivative of Vitamin E // J. Rad. Res. 2002. Vol. 42. P. 153.
16. Rajagopalan R. et al. Radiosensitizer Sanazole (AK-2123) Enhance r-Radiation- induced Apoptosis in Murine Fibrosarcoma // J. Rad. Res. 2003. Vol. 44. P. 459–459.
17. Salvi V.P. et al. Radioprotection of membrane damage by TMG (tocopherol monoglycoside) // Abst. Book of Intern. Conf. on Natural Antioxidants and Free Radicals in Human Health and Radiation Biology. 21–24 July 2001. Mumbai. P. 188.
18. Sasai K. et al. // Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys. 1989. Vol. 17, Suppl. 1. P. 241.
19. Satyamitra M. et al. In vivo radioprotection by 6-TMG: preliminary studies // Mutat. Res. 2001. Vol. 9194. P. 1–9.
20. Satyamitra M. et al. In Vivo Post irradiation Protection by Vitamin E Analog, 6-TMG // Rad. Res. 2003. Vol. 160. P. 655–661.
21. Shibamoto Y. et al. Radiosensitization in vitro by 3-Nitrotriazole // Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys. 1986. Vol. 12. P. 1063–1066.
22. Shimanskaya R. et al. Radioprotective Effect of Water Soluble Vitamin E Analog (TMG) In Vitro and In Vivo // Abst. Book of Symp. on Radioprotectors for Human Health. Kyoto Japan. 16 July 2001. P. 12.
23. Shu R. et al. Clinical Pharmacokinetic Study on Radiosensitizer, Sanazole, in Lung Cancer Patient by p.o. and i.v. Administration // 10th Intern. Conf. on Chemical Modifiers of Cancer Treatment. Florida, USA, 28–31 January 1998. Abstract 127–128.
24. Sugie C. et al. Reevaluation of the Radiosensitizing Effect of Sanazole and Nimorazole In Vitro and In Vivo. // J. Rad. Res. 2005. Vol. 46. P. 453–459.