

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РАДИОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ СОЕДИНЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ АКРИДОНУКСУСНУЮ КИСЛОТУ, ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЛУЧЕВОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ НА МОДЕЛИ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА У МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/c

© А.П. Трашков¹⁻³, А.А. Мужикян^{1,2}, Н.В. Цыган^{1,2}, А.В. Рябцев², А.В. Рыбакова^{1,2}, В.В. Кванчиани², А.А. Кравцова⁴, А.Г. Васильев⁴

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва;

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Петербургский институт ядерной физики имени Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург;

³ Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург;

⁴ Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург

Для цитирования: Трашков А.П., Мужикян А.А., Цыган Н.В., Рябцев А.В., Рыбакова А.В., Кванчиани В.В., Кравцова А.А., Васильев А.Г. Сравнительный анализ радиосенсибилизирующего действия соединений, содержащих акридонуксусную кислоту, при проведении экспериментальной лучевой терапии злокачественных новообразований на модели метастатического колоректального рака у мышей линии BALB/c // Педиатр. – 2020. – Т. 11. – № 6. – С. 45–53. <https://doi.org/10.17816/PED11645-53>

Поступила: 14.10.2020

Одобрена: 17.11.2020

Принята к печати: 23.12.2020

Для увеличения эффективности лучевой терапии в лечении пациентов с онкологической патологией и снижения вредного системного действия излучения применяются радиосенсибилизаторы, селективно накапливающиеся в опухолевой ткани и усиливающие некробиотические процессы в ней при облучении. К сожалению, широкого внедрения радиосенсибилизирующих веществ в клиническую практику не произошло по причине невысокой эффективности исследуемых соединений и из-за их сильного побочного действия. Это определяет актуальность исследований эффективности радиосенсибилизаторов при проведении лучевой терапии злокачественных новообразований на модели колоректального рака. Исследование проведено на 156 самцах мышей линии BALB/c, для моделирования опухолевого процесса был использован штамм аденокарциномы толстой кишки. Животным после трансплантации опухоли вводили лекарственные препараты на основе акридонуксусной кислоты Циклоферон и Процитол. Проводили сравнительную оценку динамики роста опухоли, частоты метастазирования. Выявлено, что комбинация гамма-облучения и исследуемых радиосенсибилизирующих препаратов оказало более выраженное терапевтическое действие по всем показателям роста и развития экспериментальной аденокарциномы толстой кишки, чем изолированный эффект лучевой терапии или противоопухолевых препаратов. Наблюдалось значительное торможение роста опухоли на 14-е и 28-е сутки, достоверное ингибирование лимфогенного и гематогенного метастазирования новообразования на всем протяжении периода наблюдений и статистически значимое увеличение продолжительности жизни подопытных животных. Радиосенсибилизирующее действие, противоопухолевая и антиметастатическая активность препарата Процитол в сочетании с лучевой терапией оказались более выраженными в сравнении с препаратом Циклоферон.

Ключевые слова: радиосенсибилизация; лучевая терапия; модель колоректального рака; акридинацетат.

COMPARATIVE ANALYSIS OF ACRIDINEACETATE-CONTAINING COMPOUNDS' RADIO-SENSITIZING EFFECT DURING MALIGNANT TUMOR EXPERIMENTAL RADIOTHERAPY IN A METASTATIC COLORECTAL CANCER MODEL IN BALB/c MICE

© A.P. Trashkov¹⁻³, A.A. Muzhikyan^{1,2}, N.V. Tsygan^{1,2}, A.V. Ryabtsev², A.V. Rybakova^{1,2}, V.V. Kvanchiani², A.A. Kravtsova⁴, A.G. Vasiliev⁴

¹ National Research Centre "Kurchatov Institute", Moscow, Russia;

² B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Centre "Kurchatov Institute", Saint Petersburg, Russia;

³ Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia;

⁴ St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg

For citation: Trashkov AP, Muzhikyan AA, Tsygan NV, Ryabtsev AV, Rybakova AV, Kvanchiani VV, Kravtsova AA, Vasiliev AG. Comparative analysis of acridineacetate-containing compounds' radio-sensitizing effect during malignant tumor experimental radiotherapy in a metastatic colorectal cancer model in BALB/c mice. *Pediatrician (St. Petersburg)*. 2020;11(6):45-53. <https://doi.org/10.17816/PED11645-53>

Received: 14.10.2020

Revised: 17.11.2020

Accepted: 23.12.2020

Radio-sensitizing compounds are used to increase radiotherapy effectivity and reduce negative pathologic systemic effects of radiation. These radio-sensitizers selectively pile-up in tumor tissue and enhance necrobiotic processes caused by irradiation. Unfortunately, broad introduction of radio-sensitizers into clinical practice is hampered by their low effectivity and substantial negative side effects. This what determines radio-sensitizers effectivity studies high actuality in a colorectal cancer mice model. The study involved 156 male BALB/c mice who had been transplanted with colorectal cancer. After the transplantation they were injected with acridineacetate – containing compounds Cyclophosphamide and Procritol. A comparative assessment was undertaken of tumor growth dynamics and metastatic rate. A combination of gamma-irradiation with radio-sensitizing compounds produces a more substantial therapeutic effect according to all parameters of the experimental colorectal cancer growth and development than the isolated effect of radiotherapy or antitumor drugs. A considerable slowing down of tumor growth on the 14th and 28th day of the study was revealed as well as a reliable inhibition of lymphogenous and hematogenous metastatic spread of neoplasma during the entire study and a statistically valid increase of lifespan of the experimental animals. The radiosensitizing effect of Procritol in combination with radiotherapy turned out to be more substantial than that of Cyclophosphamide.

Keywords: radiosensitization; radiotherapy; colorectal cancer model; acridineacetate.

Онкологические заболевания остаются одной из ключевых проблем медицины, несмотря на впечатляющие успехи фундаментальной и клинической онкологии, расширение арсенала противоопухолевой химиотерапии и повышение технической оснащенности учреждений здравоохранения. Удельный вес опухолевой патологии в структуре общей заболеваемости и смертности в экономически развитых странах мира неуклонно нарастает с каждым годом во всех возрастных группах у мужчин и женщин.

Лучевая терапия с использованием в качестве элиминирующего агента ионизирующих излучений различных типов — одно из наиболее современных направлений противоопухолевой терапии, с которым связывают надежды на качественное улучшение результатов лечения онкологических пациентов с различными гистологическими типами злокачественных новообразований и их метастазов с одновременным снижением системного (токсического) воздействия противоопухолевой терапии [1].

Наряду с объективными достоинствами этого метода лечения новообразований, он не лишен недостатков, связанных как с неселективностью воздействия ионизирующего излучения на все органы и ткани, находящиеся в фокусе пучка излучения или в области действия радиофармацевтического препарата, так и с сильной технологической зависимостью лучевой терапии и высокой стоимостью проводимого лечения [2, 3, 8]. Одним из наиболее простых методов увеличения эффективности лучевой терапии и, одновременно, снижения системного (токсического) действия излучения является применение веществ радиосенсибилизаторов — селективно накапливающихся в опухолевой ткани соединений, усиливающих некробиотические процессы в ней при облучении [3, 5, 7].

Несмотря на значительный период изучения этого вопроса, широкого внедрения радиосенсибилизирующих веществ в клиническую практику не произошло либо по причине невысокой эффективности исследуемых соединений, либо по причине

их сильного побочного действия (например, метронидазола или соединений на его основе [6]), требующего проведения компенсирующих назначений.

Вышеизложенное определяет актуальность наших исследований по сравнительной оценке эффективности различных лекарственных препаратов — производных акридонуксусной кислоты — при проведении лучевой терапии злокачественных новообразований на модели колоректального рака у лабораторных животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 156 самцах мышей линии BALB/c, разведения питомника филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства» России. Масса тела животных на момент включения в исследование составляла 25–28 г. Содержание, питание, выведение животных из эксперимента и утилизацию биологических отходов проводили в соответствии с российскими и международными нормативными актами, регламентирующими работу с лабораторными животными, и правилами биоэтики.

Для моделирования опухолевого процесса был использован штамм аденокарциномы толстой кишки (АКАТОЛ), полученной из ЦКП «Коллекция культур клеток позвоночных» (ИНЦ РАН). Выбор тест-системы обусловлен ее удовлетворительными темпами развития и распространения в организме животного с вовлечением в патологический процесс различных органов и систем, а также высокой биологической эквивалентностью онкологическим заболеваниям у человека (колоректальный рак) [4]. Воспроизведение новообразования производили общепринятым способом, посредством прямой трансплантации злокачественных клеток, полученных от животных-опухоленосителей, в объеме 0,2 мл взвеси опухолевой массы в 0,9 % растворе натрия хлорида в соотношении 1 : 10, подкожно в область правого бока.

Были выделены 6 экспериментальных групп:

1. «АКАТОЛ» (патогенез; $n = 26$) — животные, которым была трансплантирована аденокарцинома толстой кишки с последующим анализом показателей ее роста и развития.
2. «Лучевая терапия» (ЛТ; $n = 26$) — животные, которым на 5-е сутки после трансплантации АКАТОЛ производили лучевую терапию.
3. «Циклоферон» ($n = 26$) — животные, которым была трансплантирована опухоль и начиная со 2-х суток на протяжении 3 сут от начала эксперимента вводили лекарственный препарат на основе акридонуксусной кислоты Циклоферон.
4. «Процитол» ($n = 26$) — животные, которым была трансплантирована опухоль и начиная со 2-х суток на протяжении 3 сут от начала эксперимента вводили лекарственный препарат на основе акридонуксусной кислоты и L-лизина Процитол.
5. «ЛТ + Циклоферон» ($n = 26$) — животные, которым была трансплантирована опухоль и начиная со 2-х суток на протяжении 3 сут от начала эксперимента вводили лекарственный препарат на основе акридонуксусной кислоты Циклоферон и на 5-е сутки осуществляли лучевую терапию.
6. «ЛТ + Процитол» ($n = 26$) — животные, которым была трансплантирована опухоль и начиная со 2-х суток на протяжении 3 сут от начала эксперимента вводили лекарственный препарат на основе акридонуксусной кислоты и L-лизина Процитол и на 5-е сутки осуществляли лучевую терапию.

Каждая группа мышей включала в себя 61 животное и была разделена на 2 подгруппы, в которых оценивали: 1) продолжительность жизни мышей и динамику роста первичного опухолевого узла ($n = 6$), 2) изучаемые онкологические показатели (рост опухолевого узла и динамику метастазирования) в контрольных точках исследования ($n = 20$; $10 + 5 + 5$).

Лучевую терапию проводили на стандартной гамма-установке РХ-гамма-30, ВО «Изотоп». Доза облучения составила 2 Гр.

Введение лекарственных препаратов Циклоферон и Процитол производилось внутривенно, в растворе 0,9 % натрия хлорида. Объем введения — 0,5 мл. Доза вводимого препарата — 100 мг/кг массы тела животного (по акридонуксусной кислоте).

Оценивали следующие показатели развития новообразования:

1. Торможение роста опухоли (ТРО), по формуле:
$$\text{ТРО (\%)} = [(V_{\text{контроль}} - V_{\text{опыт}}) / V_{\text{контроль}}] \cdot 100 \%,$$
где V — объем опухоли в см^3 . Клинически значимый уровень ТРО $> 50 \%$. Для этого предварительно оценивали объем опухолевого узла (изменение объема узла в контрольных точках исследования; три взаимоперпендикулярных размера — $a \times b \times c$; см^3).
2. Средняя продолжительность жизни (СПЖ) животных (сутки).
3. Увеличение продолжительности жизни, по формуле:
$$\text{УПЖ - (\%)} = [(СПЖ(\text{опыт}) - СПЖ(\text{контроль})) / СПЖ(\text{контроль})] \cdot 100 \%.$$
Клинически значимый уровень УПЖ $> 25 \%$.

4. Частота метастазирования опухоли (по органам) — процент животных с метастазами по отношению к общему количеству животных в группе.
5. Среднее число метастазов на одно животное, имеющее метастазы, в каждой группе (по органам).
6. Индекс ингибирования метастазирования (ИИМ), по формуле:

$$\text{ИИМ (\%)} = [(A_k \cdot B_k) - (A \cdot B) / A_k \cdot B_k] \cdot 100 \%,$$

где A_k и A — частота метастазирования в органы у животных контрольной и опытной групп; B_k и B — среднее число метастазов в органе одного животного в контрольной и опытной группах. Клинически значимый уровень $>75\%$.

Контрольными точками исследования брали 14, 28 и 42-е сутки от момента трансплантации опухоли. В указанные периоды проводили полную некропсию животного и оценивали размеры опухоли и ее распространенность в организме. Макроскопически измененные лимфатические узлы и печень изучали при помощи бинокулярной лупы (десятикратное увеличение) и при наличии оснований осуществляли гистологический анализ общепринятым способом, с подготовкой микропрепаратов и окраской гематоксилином и эозином с целью верификации метастазов новообразования.

Статистическую обработку производили при помощи пакета программ SPSS for Windows. Данные приведены в виде $M \pm m$ (средняя арифметическая \pm ошибка средней арифметической). Проверку характера распределения данных осуществляли расчетом критерия Колмогорова–Смирнова. Сравнение средних величин количественных данных независимых выборок производили при помощи t -критерия Стьюдента. Анализ качественных данных — путем расчета критерия χ^2 Пирсона. Точные доверительные интервалы (ДИ) для долей вычисляли по методу Клоппера–Пирсона с помощью свободно доступной программы Confint. Достоверным уровнем отличий считали вероятность не менее 95% ($p < 0,05$), что является стандартом в медико-биологических исследованиях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При указанном выше объеме трансплантируемого опухолевого материала новообразование развивалось у всех животных, включенных в исследование. При этом время выявления первичного опухолевого узла в экспериментальных группах существенно отличалось. В целом, для АКАТОЛ было характерно относительно медленное развитие, динамика роста новообразования приведена в табл. 1.

Лучевая терапия опухоли у мышей была клинически эффективной на начальных этапах роста АКАТОЛ. На 14-е сутки эксперимента в группе

Таблица 1 / Table 1

Влияние лекарственных препаратов с радиосенсибилизирующим действием Циклоферон и Процитол на торможение роста первичного опухолевого узла экспериментальной аденокарциномы толстой кишки у подопытных мышей при проведении лучевой терапии, см³, $M \pm m$

The effects of radio-sensitizing compounds Cyclophosphorone and Procitol upon inhibition of growth of primary tumor node of experimental colonic adenocarcinoma in experimental animals during radio-therapy, cm³, $M \pm m$

Группы / Experimental groups	Объем опухоли [ТРО] / Tumorsize [TGI]		
	14-е сутки / 14 th day	28-е сутки / 28 th day	42-е сутки / 42 nd day
АКАТОЛ / CAC	1,3 \pm 0,20	7,4 \pm 1,09	16,5 \pm 1,71
Лучевая терапия (ЛТ) / Radiotherapy (RT)	0,6 \pm 0,07 ¹ [54 %] ⁴	6,2 \pm 1,24 [16 %]	15,1 \pm 1,66 [9 %]
Циклоферон / Cyclophosphorone	1,0 \pm 0,36 [23 %]	6,0 \pm 1,19 [19 %]	14,2 \pm 1,85 [14 %]
Процитол / Procitol	0,8 \pm 0,28 [39 %]	7,1 \pm 1,74 [4 %]	13,6 \pm 3,20 [18 %]
ЛТ + Циклоферон / RT + Cyclophosphorone	0,4 \pm 0,06 ^{1,*} [69 %] ⁴	4,3 \pm 0,56 ¹ [42 %]	13,5 \pm 2,01 [18 %]
ЛТ + Процитол / RT + Procitol	0,5 \pm 0,02 ^{1,**} [62 %] ⁴	2,0 \pm 0,50 ^{1,2,3,**} [73 %] ⁴	12,9 \pm 1,93 [22 %]

¹ Отличия от среднего значения группы «АКАТОЛ» статистически значимы ($p < 0,05$); ² отличия от среднего значения группы «ЛТ» статистически значимы ($p < 0,05$); ³ отличия от среднего значения группы «ЛТ + Циклоферон» статистически значимы ($p < 0,05$); ⁴ торможение роста опухоли клинически значимо ($>50\%$); * у 3 особей не наблюдалось развития новообразования в указанный период времени; ** у 2 особей не наблюдалось развития новообразования в указанный период времени. *Примечание.* АКАТОЛ — аденокарцинома толстой кишки; M — средняя арифметическая, m — ошибка средней арифметической, ТРО — торможение роста опухоли.

¹ Statistically valid difference from group CAC ($p < 0,05$); ² statistically valid difference from group RT ($p < 0,05$); ³ statistically valid difference from group RT + Cyclophosphorone ($p < 0,05$); ⁴ TGI is clinically substantial ($>50\%$); * no neoplasm growth in 3 mice; ** no neoplasm growth in 2 mice. *Notes.* CAC – colonic adenocarcinoma, M – mean, m – meanerror, TGI – tumor growth inhibition.

животных, получавших лечение, наблюдалось статистически значимое торможение роста опухоли до 54 % ($p = 0,044$). При этом установлено, что действие однократного гамма-облучения на используемой модели опухолевого роста имеет кратковременный характер — замедление развития АКАТОЛ под действием ионизирующего излучения практически не прослеживалось в отдаленный период наблюдений (на 28-е и 42-е сутки) (табл. 1).

Химиотерапия препаратами Циклоферон и Процитол не оказала значительного эффекта на используемой модели опухолевого процесса. Достоверных отличий между исследуемыми препаратами при оценке динамики роста АКАТОЛ выявлено не было ($p = 0,327$; табл. 1).

Применение лучевой терапии на фоне лечения АКАТОЛ препаратами на основе акридонуксусной кислоты оказало сильное и пролонгированное воздействие на динамику роста новообразования. В этих экспериментальных группах и на 14-е сутки, и на 28-е сутки отмечалось достоверное уменьшение объема первичного опухолевого узла по сравнению с группой животных, не получавших лечение (табл. 1). На 14-е сутки эффект ингибирования развития новообразования был максимально выражен и достигал клинически значимого уровня (69 % для группы животных, получавших лучевую терапию на фоне применения Циклоферона, и 62 % — Процитола). В указанный период времени только в этих группах животных у части особей (табл. 1) не отмечалось развития новообразования на уровне пальпируемого узла.

Сравнительный анализ выявил большую эффективность Процитола, как радиосенсибилизирующего средства, в отношении торможения развития аденокарциномы толстой кишки у мышей. На 28-е сутки исследования средний объем опухоли у животных этой группы статистически значимо отличался не только от контрольных значений, но и от показателей в группах мышей, получавших только лучевую терапию и лучевую терапию на фоне применения Циклоферона ($p < 0,05$; табл. 1). Торможение роста опухолевого узла в этот период времени также достоверно превышало клинически значимый уровень и составляло 73 %.

Введение животным исследуемых препаратов как в режиме монотерапии, так и в сочетании с гамма-облучением приводило к замедлению не только темпов роста первичного узла АКАТОЛ в области трансплантации клеток новообразования, но и к умеренному замедлению интенсивности распространения новообразования в организме животных, регистрируемого на всех этапах эксперимента (табл. 2).

Уже на 14-е сутки эксперимента у большинства животных были зарегистрированы метастазы в лимфатические узлы (71 %) и печень (43 %), что подтверждают данные литературы о смешанном лимфогенном и гематогенном характере распространения АКАТОЛ в организме [8, 9]. К окончанию периода наблюдений (42-е сутки) у всех животных, не получавших лечение, были выявлены метастазы в лимфатических узлах; метастазы в печени были выявлены у 71 % мышей этой группы (табл. 2).

На фоне применения лучевой терапии в качестве единственного метода лечения новообразования наблюдалось полное отсутствие гематогенных метастазов АКАТОЛ в печень и умеренное снижение интенсивности метастазирования в лимфатической системе в 1,8 раза ($p = 0,315$) на 14-е сутки развития опухоли. В отсроченный период наблюдений (28-е и 42-е сутки эксперимента) терапевтический эффект гамма-облучения ослабевал и в указанных контрольных точках существенных отличий от показателей контрольной группы по степени интенсивности метастазирования не наблюдалось (табл. 2).

Применение исследуемых препаратов Циклоферон и Процитол оказало существенное влияние в отношении ингибирования метастазирования АКАТОЛ на раннем этапе развития новообразования (14-е сутки; табл. 2). В указанный период времени метастазы новообразования в лимфатические узлы у мышей, получавших монотерапию этими препаратами, регистрировались в 10 % случаев, что было достоверно ниже, чем в группе нелеченных животных ($\chi^2 = 4,380$; $p = 0,037$). При этом метастазирование опухоли гематогенным путем было полностью блокировано — ни у одного животного не наблюдалось метастазов АКАТОЛ в печени. Начиная с 28-х суток исследования антиметастатический эффект препаратов, содержащих акридонуксусную кислоту, постепенно ослабевал и статистически значимо не отличался от показателей контрольной группы и группы мышей, получавших лучевую терапию.

Сочетанное применение обоих исследуемых препаратов и лучевой терапии оказало наибольший антиметастатический эффект на обследуемой модели опухолевого процесса (табл. 2). На 14-е сутки исследования единичные метастазы опухоли в лимфатических узлах были зарегистрированы у 10 % животных группы «ЛТ + Процитол», что было достоверно ниже показателей группы «АКАТОЛ» в среднем в 7 раз ($\chi^2 = 4,380$; $p = 0,037$). При этом в указанный период наблюдений метастазов в печень не наблюдалось ни в одном случае.

Таблица 2 / Table 2

Влияние лекарственных препаратов с радиосенсибилизирующим действием Циклоферон и Процитол на интенсивность метастазирования аденокарциномы толстой кишки у мышей при проведении лучевой терапии
The effects of radio-sensitizing compounds Cyclopheron and Procitol upon experimental colonic adenocarcinoma metastatic spread intensity in experimental animals during radio-therapy

Группа / Group	Количество мышей с метастазами / Number of mice with metastases			Среднее число метастазов у мышей с опухолями, $M \pm m$ / Mean number of metastases in mice with tumor, $M \pm m$	Индекс ИМ, % / MI index, %
	Орган / Organ	%	95 % ДИ / 95 % CI		
14-е сутки / Day 14 th					
АКАТОЛ / CAC	Лимфоузлы / Lymph nodes	71	29,0–96,3	1,4 ± 0,25	–
	Печень / Liver	43	9,9–81,6	1 – const.	–
Лучевая терапия (ЛТ) / Radiotherapy (RT)	Лимфоузлы / Lymph nodes	40	12,1–73,8	1 – const.	–
	Печень / Liver	0	0	0	–
Циклоферон / Cyclopheron	Лимфоузлы / Lymph nodes	10 ¹	0,2–44,5	1 – const.	–
	Печень / Liver	0	0	0	–
Процитол / Procitol	Лимфоузлы / Lymph nodes	10 ¹	0,2–44,5	1 – const.	–
	Печень / Liver	0	0	0	–
ЛТ + Циклоферон / RT + Cyclopheron	Лимфоузлы / Lymph nodes	0	0	0	–
	Печень / Liver	0	0	0	–
ЛТ + Процитол / RT + Procitol	Лимфоузлы / Lymph nodes	10 ¹	0,2–44,5	1 – const.	–
	Печень / Liver	0	0	0	–
28 сутки / Day 28 th					
АКАТОЛ / CAC	Лимфоузлы / Lymph nodes	100	→ 100	5,0 ± 1,00	–
	Печень / Liver	56	21,2–86,3	2,4 ± 0,60	–
ЛТ / RT	Лимфоузлы / Lymph nodes	100	→ 100	5,0 ± 0,71	→ 0
	Печень / Liver	63	24,5–91,5	2,2 ± 0,49	(–)3,1
Циклоферон / Cyclopheron	Лимфоузлы / Lymph nodes	100	→ 100	3,6 ± 1,40	28,0
	Печень / Liver	38	8,5–75,5	1,8 ± 0,80	49,1
Процитол / Procitol	Лимфоузлы / Lymph nodes	100	→ 100	3,0 ± 0,84	40,0
	Печень / Liver	50	15,7–84,3	1,6 ± 0,40	40,5
ЛТ + Циклоферон / RT + Cyclopheron	Лимфоузлы / Lymph nodes	88	47,4–99,7	2,0 ± 0,63 ^{1,2}	64,8
	Печень / Liver	63	24,5–91,5	1,2 ± 0,20	43,8
ЛТ + Процитол / RT + Procitol	Лимфоузлы / Lymph nodes	88	47,4–99,7	1,4 ± 0,40 ^{1,2}	75,4 ³
	Печень / Liver	50	15,7–84,3	1,2 ± 0,20	55,4
42 сутки / Day 42 nd					
АКАТОЛ / CAC	Лимфоузлы / Lymph nodes	100	→ 100	9,0 ± 1,78	–
	Печень / Liver	71	29,0–96,3	4,3 ± 0,85	–
ЛТ / RT	Лимфоузлы / Lymph nodes	100	→ 100	8,0 ± 1,14	11,1
	Печень / Liver	50	11,8–88,2	4,8 ± 0,97	21,4
Циклоферон / Cyclopheron	Лимфоузлы / Lymph nodes	100	→ 100	7,4 ± 1,50	17,8
	Печень / Liver	50	11,8–88,2	2,8 ± 0,58	54,1
Процитол / Procitol	Лимфоузлы / Lymph nodes	100	→ 100	6,0 ± 1,64	33,3
	Печень / Liver	67	22,3–95,7	2,8 ± 0,58	38,6
ЛТ + Циклоферон / RT +Cyclopheron	Лимфоузлы / Lymph nodes	100	→ 100	7,4 ± 1,29	17,8
	Печень / Liver	50	11,8–88,2	2,2 ± 0,58	64,0
ЛТ + Процитол / RT + Procitol	Лимфоузлы / Lymph nodes	100	→ 100	8,6 ± 1,83	4,4
	Печень / Liver	33	4,3–77,7	2,0 ± 0,55	78,4 ³

¹ Отличия от значения группы «АКАТОЛ» статистически значимы ($p < 0,05$); ² отличия от значения группы «ЛТ» статистически значимы ($p < 0,05$); ³ ингибирование метастазирования опухоли клинически значимо ($>75\%$). *Примечание.* ИМ — интенсивность метастазирования, АКАТОЛ — аденокарцинома толстой кишки, M — средняя арифметическая, m — ошибка средней арифметической.

¹ Statistically valid difference from group CAC ($p < 0,05$); ² statistically valid difference from group RT ($p < 0,05$); ³ metastatic spread inhibition is clinically substantial ($>75\%$). *Notes.* MI – metastatic spread intensity, CAC – colonic adenocarcinoma, M – mean, m – meanerror.

В группе «ЛТ + Циклоферон» в указанный период времени лимфогенных и гематогенных метастазов опухоли не наблюдалось ни в одном случае. При этом достоверных отличий между этими экспериментальными группами нет ($\chi^2 = 1,053$; $p = 0,305$).

На 28-е сутки эксперимента в группах животных, получивших сочетанное лечение исследуемыми препаратами и гамма-облучением, сохранялось статистически значимое ослабление метастатической активности АКАТОЛ, проявляющееся прежде всего в снижении среднего количества метастазов, выявляющихся в лимфатических узлах мышечей, по сравнению с контрольной группой и группой животных, получавших только лучевую терапию (в 2,5 раза в группе «ЛТ + Циклоферон» ($p = 0,034$) и в 3,6 раза в группе «ЛТ + Процитол» ($p = 0,013$). При этом в группе «ЛТ + Процитол» был зарегистрирован высокий, клинически значимый уровень индекса ингибирования метастазирования опухоли по лимфогенному пути (75 %) (табл. 2).

На 42-е сутки исследования (более 5 нед. после окончания комбинированной терапии) в этих группах мышечей неожиданно было зафиксировано выраженное ингибирование метастатической активности АКАТОЛ по гематогенному пути (табл. 2), более выраженное у животных, получавших лучевую терапию на фоне применения препарата Процитол (ИИМ = 78 %). При этом достоверных отличий между этими экспериментальными группами отмечено не было ($p > 0,100$). В рамках нашего исследования дать исчерпывающие объяснения этому феномену объективно не представляется возможным. В рамках предварительного обсуждения ав-

торы статьи и их коллеги высказывали различные предположения, наиболее вероятным из которых, на наш взгляд, является не только усиление элиминирующего действия ионизирующего излучения на опухолевые клетки и элементы стромы новообразования при селективном насыщении области роста опухоли акридонуксусной кислотой, но и прямое пролонгированное цитостатическое действие исследуемых препаратов, механизмы которого нуждаются в дополнительном углубленном изучении.

Высокая противоопухолевая и антиметастическая активность исследуемых препаратов, прежде всего при их комбинации с лучевой терапией, отразилась на интегральном показателе терапевтического действия — увеличении средней продолжительности жизни животных (табл. 3).

Однократное применение гамма-излучения для терапии АКАТОЛ, а также применение обоих исследуемых препаратов в монорежиме коротким курсом практически не оказало существенного влияния на продолжительность жизни подопытных животных (табл. 3). В то же время, комбинация этих видов противоопухолевой терапии показала выраженную эффективность в отношении оцениваемого показателя. И в группе «Лучевая терапия + Циклоферон» и в группе «Лучевая терапия + Процитол» средняя продолжительность жизни мышечей была статистически значимо выше контрольных значений ($p < 0,05$). При этом максимальная продолжительность жизни животных была зафиксирована в группе мышечей, получавших гамма-облучение на фоне применения препарата Процитол. Коэффициент УПЖ в этой группе достигал клинически значимого уровня (табл. 3).

Таблица 3 / Table 3

Влияние лекарственных препаратов с радиосенсибилизирующим действием Циклоферон и Процитол на продолжительность жизни у мышечей с аденокарциномой толстой кишки при проведении лучевой терапии, сутки, $M \pm m$

The effects of radio-sensitizing compounds Cyclophosphamide and Proctol upon lifespan of mice with experimental colonic adenocarcinoma during radio-therapy, days, $M \pm m$

Группа / Group	Продолжительность жизни / Lifespan	Приращение продолжительности жизни / Lifespan increment, %
АКАТОЛ / CAC	46,0 \pm 3,06	—
Лучевая терапия (ЛТ) / Radiotherapy (RT)	49,1 \pm 6,30	7
ЛТ / RT	49,8 \pm 5,17	8
Процитол / Proctol	47,5 \pm 4,29	3
ЛТ + Циклоферон / RT + Cyclophosphamide	57,2 \pm 3,53 ¹	24
ЛТ + Процитол / RT + Proctol	63,4 \pm 5,40 ¹	38 ³

¹ Отличия от среднего значения группы «АКАТОЛ» статистически значимы ($p < 0,05$); ² отличия от значения группы «ЛТ» статистически значимы ($p < 0,05$); ³ ингибирование метастазирования опухоли клинически значимо ($>25\%$). Примечание. АКАТОЛ — аденокарцинома толстой кишки, M — средняя арифметическая, m — ошибка средней арифметической.

¹ Statistically valid difference from group CAC ($p < 0,05$); ² statistically valid difference from group RT ($p < 0,05$); ³ metastatic spread inhibition is clinically substantial ($>25\%$). Notes. CAC — colonic adenocarcinoma, M — mean, m — mean error.

ВЫВОДЫ

1. В ходе исследования воспроизведена модель колоректального рака — аденокарцинома толстой кишки мышей линии BALB/c (АКАТОЛ), характеризующаяся относительно невысокими темпами роста первичного опухолевого узла и интенсивным лимфогенным и гематогенным метастазированием.

2. Однократное применение лучевой терапии новообразования на гамма-излучающей установке показала умеренную эффективность в отношении используемой модели опухолевого процесса на начальных этапах его развития, вызывая достоверное клинически значимое торможение роста АКАТОЛ и ингибирование обоих путей распространения опухоли (лимфогенного и гематогенного) на 14-е сутки эксперимента.

3. Монотерапия АКАТОЛ препаратами, содержащими акридонуксусную кислоту, Циклоферон и Процитол, в дозе 100 мг/кг массы тела животного путем ежедневного введения на протяжении 72 ч, оказалась эффективной в отношении ингибирования распространения опухоли в первые 14 сут эксперимента. На 28-е и 42-е сутки исследования ингибирование метастазирования опухоли в этих экспериментальных группах постепенно ослабевало.

4. Комбинация гамма-облучения и исследуемых препаратов оказала выраженное терапевтическое действие в отношении всех оцениваемых показателей роста и развития экспериментальной аденокарциномы толстой кишки. Наблюдалось значительное торможение роста АКАТОЛ на 14-е и 28-е сутки, достоверное ингибирование лимфогенного и гематогенного метастазирования новообразования на всем протяжении периода наблюдений и статистически значимое увеличение продолжительности жизни подопытных животных.

5. Радиосенсибилизирующее действие, противоопухолевая и антиметастатическая активность препарата Процитол в сочетании с лучевой терапией оказались более выраженными в сравнении с референсным препаратом Циклоферон.

Работа выполнена при поддержке НИЦ «Курчатовский институт» (приказ № 1363 от 25.06.2019).

ЛИТЕРАТУРА

- Бойко А.В., Дунаева Е.А., Демидова Л.В., и др. Профилактика и лечение ранних лучевых осложнений гидрогелевым материалом с деринатом у больных со злокачественными новообразованиями женских половых органов // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2016. – Т. 5. – № 6. – С. 5–11.
- Boyko AV, Dunaeva EA, Demidova LV, et al. Prevention and treatment of early radiation complications by the hydrogel material with derinat in patients with malignant neoplasms of the female genital organs. *P.A. Herzen Journal of Oncology*. 2016;5(6): 5-11. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17116/onkolog2016565-11>.
- Жариков А.А., Терехов О.В. Онкологическая заболеваемость органов малого таза, лучевые повреждения и их диагностика (обзор литературы) // Радиация и риск. – 2013. – Т. 22. – № 3. – С. 57–64. [Zharikov AA, Terekhov OV. Pelvic cancer, radiation induced injury, diagnostics (review of literature). *Radiacija i risk*. 2013;22(3):57-64. (In Russ.)]
- Малиновская Е.А. Исследование эффективности гепатопротектора лохеина в комплексной терапии экспериментальных злокачественных опухолей // Сибирский онкологический журнал. – 2003. – № 4. – С. 17–21. [Malinovskaya EA. The study of the efficacy of lokhein hepatoprotector in the complex therapy of experimental malignant tumors. *Siberian Journal of Oncology*. 2003;(4):17–21. (In Russ.)]
- Островская Л.А., Корман Д.Б., Варфоломеев С.Д., и др. Полисукцинимид – противоопухолевая активность в эксперименте // Биофизика. – 2015. – Т. 60. – № 2. – С. 371–376. [Ostrovskaya LA, Korman DB, Varfolomeev SD, et al. Polysuccinimide: experimental antitumor activity. *Biophysics*. 2015;60(2):371-376. (In Russ.)]
- Cherdyntseva NV, Kokorev OV, Konovalova NP, Kagiya VT. Radiosensitizer AK-2123 enhances cytotoxic and cytostatic activity of splenocytes and macrophages in lewis lung carcinoma bearing mice treated with cyclophosphamide. *Experimental Oncology*. 1997;19(4): 333-337.
- Ягубов С.А., Аманджолов Б.С., Доненко Ф.В., и др. Влияние метронидазола на биологическое действие доксорубина // Исследования и практика в медицине. – 2017. – Т. 4. – № 3. – С. 16–22. [Yagubov SA, Amandzholov BS, Donenko FV, et al. Influence of metronidazole on the biological action of doxorubicin. *Research'n Practical Medicine Journal*. 2017;4(3): 16-22. (In Russ.)] <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2017-4-3-2>.
- Bonner JA, Harari PM, Giralt J, et al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med*. 2006;354(6):567-578. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa053422>.
- Creutzberg C, Althoff V, de Hoog M, et al. Quality control study of the accuracy of patient positioning in irradiation of pelvic fields. *Int J Radiation Oncol Biol Phys*. 1996;34(3):697-708. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(95\)02034-9](https://doi.org/10.1016/0360-3016(95)02034-9).

◆ Информация об авторах

Александр Петрович Трашков — канд. мед. наук, заведующий центром доклинических и клинических исследований, ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва; заведующий центром доклинических и клинических исследований, ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург; доцент кафедры биофизики ФГАОУВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Санкт-Петербург, E-mail: trashkov_ap@pnpi.nrcki.ru

Арман Артушович Мужикян — канд. вет. наук, ведущий научный сотрудник центра доклинических и клинических исследований, ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва; ведущий научный сотрудник центра доклинических и клинических исследований, ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург. E-mail: vetdiagnostics.spb@gmail.com.

Николай Васильевич Цыган — д-р мед. наук, доцент, ведущий научный сотрудник центра доклинических и клинических исследований, ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва; ведущий научный сотрудник центра доклинических и клинических исследований ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург. E-mail: tsygan_nv@pnpi.nrcki.ru.

Александр Владимирович Рябцев — младший научный сотрудник центра доклинических и клинических исследований, ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург. E-mail: ryabtsev26@gmail.com.

Анна Владимировна Рыбакова — канд. вет. наук, старший научный сотрудник центра доклинических и клинических исследований, ФГБУ «Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», Москва; старший научный сотрудник центра доклинических и клинических исследований, ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург. E-mail: rybakova_av@pnpi.nrcki.ru.

Варвара Валерьевна Кванчиани — канд. вет. наук, научный сотрудник центра доклинических и клинических исследований, ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова» Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», Санкт-Петербург. E-mail: kvanchiani_vv@pnpi.nrcki.ru.

Алефтина Алексеевна Кравцова — канд. биол. наук, доцент кафедры патофизиологии с курсом иммунопатологии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: aleftinakravcova@mail.ru.

Андрей Глебович Васильев — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой патофизиологии с курсом иммунопатологии. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург. E-mail: avas7@mail.ru.

◆ Information about the authors

Alexander P. Trashkov — PhD, MD, Head of Preclinical and Clinical Studies Center, B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Centre “Kurchatov Institute”, Moscow, Russia; Head of Preclinical and Clinical Studies Center, B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Centre “Kurchatov Institute”, Saint Petersburg, Russia; Assoc. Professor, St. Petersburg Polytechnical University, St. Petersburg, Russia. E-mail: trashkov_ap@pnpi.nrcki.ru.

Arman A. Muzhikyan — PhD, Leading Researcher in Preclinical and Clinical Studies Center, B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Centre “Kurchatov Institute”, Moscow, Russia; Leading Researcher in Preclinical and Clinical Studies Center, B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Centre “Kurchatov Institute”, Saint Petersburg, Russia. E-mail: vetdiagnostics.spb@gmail.com.

Nikolay V. Tsygan — PhD, MD, Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher in Preclinical and Clinical Studies Center, B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Centre “Kurchatov Institute”, Moscow, Russia; Leading Researcher in Preclinical and Clinical Studies Center, B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Centre “Kurchatov Institute”, Saint Petersburg, Russia. E-mail: tsygan_nv@pnpi.nrcki.ru.

Alexander V. Ryabtsev — Junior Researcher in Preclinical and Clinical Studies Center. B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Centre “Kurchatov Institute”, Saint Petersburg, Russia. E-mail: ryabtsev26@gmail.com.

Anna V. Rybakova — PhD, Senior Researcher in Preclinical and Clinical Studies Center, B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Centre “Kurchatov Institute”, Moscow, Russia; Senior Researcher in Preclinical and Clinical Studies Center, B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Centre “Kurchatov Institute”, Saint Petersburg, Russia. E-mail: rybakova_av@pnpi.nrcki.ru.

Varvara V. Kvanchiani — PhD, Senior Researcher in Preclinical and Clinical Studies Center. B.P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Centre “Kurchatov Institute”, Saint Petersburg, Russia. E-mail: kvanchiani_vv@pnpi.nrcki.ru.

Aleftina A. Kravtsova — PhD, Associated Professor, Department Pathophysiology and Immunopathology. St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. E-mail: aleftinakravcova@mail.ru.

Andrei G. Vasiliev — MD, PhD, Dr. Sci. (Med.), Head of Department Pathophysiology and Immunopathology. St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia. E-mail: avas7@mail.ru.