DOI: 10.21870/0131-3878-2016-25-4-90-99

Комбинированная фотодинамическая терапия саркомы М-1 в сочетании с химиотерапией

Каплан М.А., Галкин В.Н., Романко Ю.С., Дрожжина В.В., Архипова Л.М.

МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, Обнинск

Комбинированный метод лечения злокачественных новообразований с использованием фотодинамической терапии (ФДТ) и химиотерапии, несомненно, является перспективным и высокоэффективным методом лечения. В настоящей работе мы представили данные об эффективности комбинированной терапии саркомы М-1 крыс с использованием ФДТ, применяя различные дозы фотосенсибилизатора фотолон и препарата цисплатин, а также различные схемы лечения. Эффективность оценивали по показателям коэффициента абсолютного прироста опухоли, торможения роста опухоли и полной регрессии опухоли. Наиболее эффективным является комбинированное лечение с использованием ФДТ и последующей химиотерапии с двукратным введением цисплатина по схеме: через 2 часа после введения фотолона проведение ФДТ с последующим введением цисплатина через 1 и 4 суток после неё (с общей дозой 2,5 мг/кг). В результате полную регрессию опухоли наблюдали у 88,9% животных, торможение роста опухоли составляло 99,9%. Исходя из полученных результатов, мы можем констатировать, что комбинированное лечение с использованием ФДТ и цисплатина является более эффективным по сравнению с каждой из монотерапий в отдельности. Важным является и тот факт, что предлагаемый вариант комбинированного лечения приводит к синергическому эффекту и, кроме того, снижает повреждающее действие цисплатина за счёт уменьшения его дозы без ущерба для эффективности проводимого лечения.

Ключевые слова: комбинированная терапия, фотосенсибилизатор, фотолон, лазерное излучение, цисплатин, саркома М-1 крыс, коэффициент абсолютного прироста опухоли, показатель торможения роста опухоли, полная регрессия, индекс контрастности.

Введение

При проведении комбинированной терапии злокачественных новообразований используют методы лечения с различными механизмами противоопухолевого воздействия. Эти методы лечения при проведении комбинированной терапии могут быть более эффективными как в непосредственном уничтожении опухолевых клеток, так и для предотвращения механизмов развития резистентности опухолевых клеток, обеспечив, тем самым, повышение общей эффективности лечения. Сочетание различных методов лечения может дать аддитивный или даже синергический эффект. При этом возможно уменьшение дозы наиболее токсичного компонента с устранением или, по крайней мере, уменьшением вредных побочных реакций.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) является разрешённой медицинской технологией лечения различных злокачественных новообразований, нескольких предраковых и неонкологических заболеваний. Для проведения ФДТ требуются три компонента: фотосенсибилизатор (ФС), источник излучения и кислород. При этом эффективность ФДТ зависит от производства активных форм кислорода в клетке [1].

Молекула ФС, получив квант света, переходит в возбуждённое триплетное состояние – на первый уровень возбуждения, вступая в фотохимические реакции двух типов. При I типе реакций молекулы ФС в триплетном состоянии взаимодействуют непосредственно с молекулами биологического субстрата, в результате чего образуются радикалы биосубстрата и ФС, которые

Каплан М.А.* – зав. отд., д.м.н., проф.; Галкин В.Н. – директор, д.м.н., проф.; Романко Ю.С. – зав. отд., д.м.н., проф.; Дрожжина В.В. – научн. сотр.; Архипова Л.М. – мл. научн. сотр. МРНЦ им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России.

*Контакты: 249036, Калужская обл., Обнинск, ул. Королёва, 4. Тел.: +7 (484) 399-30-26; e-mail: kaplan@mrrc.obninsk.ru.

вступают, в свою очередь, во взаимодействие с молекулярным кислородом. При этом образуются свободные радикалы, играющие роль очень активных окислителей биологических структур [2]. В реакциях II типа энергия молекулы возбуждённого ФС сразу передаётся молекуле кислорода, в результате чего образуется синглетный кислород, который, благодаря своему свойству сильного окислителя биомолекул, является цитотоксическим для живых клеток [3]. Считается, что *in vivo* реакции I типа играют незначительную роль в фотохимических процессах. Основную роль отдают реакциям II типа, которые играют важную роль в ФДТ: опосредованное повреждение клеток [4]. Эффективность ФДТ в значительной степени зависит и от типа, концентрации и внутриклеточной локализации ФС. Для обеспечения достаточной выработки синглетного кислорода важное значение имеют также длина волны, интенсивность и плотность излучения.

При проведении ФДТ активные формы кислорода разрушают опухоль путём реализации нескольких различных механизмов действия [5]. Прежде всего, это касается механизмов реализации некроза и/или апоптоза. При этом происходит непосредственная гибель раковых клеток [6]. ФДТ индуцирует изменения в сосудистой сети опухоли, приводящие к гемостазу в микрососудах и гипоксии [7]. Индуцируются воспалительные и иммунные реакции [8, 9]. В случае эффективной взаимосвязи этих механизмов возможен долгосрочный контроль опухоли.

Несмотря на то, что ФС накапливаются преимущественно в опухолевой ткани, селективное накопление ФС в раковых клетках остаётся в настоящее время одной из самых актуальных проблем. Известны несколько факторов, влияющих на несбалансированное распределение ФС: степень васкуляризации новообразования, тип ФС и другие.

Одновременно с работами по увеличению селективного накопления ФС в опухоли ведутся исследования по максимизации и потенцированию терапевтических эффектов ФДТ при использовании её в сочетании с другими методами лечения. Комбинированные схемы лечения должны быть направлены на повышение эффективности и, прежде всего, на полную ликвидацию опухоли, что может быть достигнуто либо за счёт подавления механизмов выживания в устойчивых к ФДТ опухолевых клетках или путём предварительного ослабления опухолевых клеток таким образом, чтобы они стали более восприимчивыми к последующей ФДТ [10]. ФДТ оказывает воздействие на клеточный цикл [11]. При этом, комбинированная терапия более эффективна, когда составляющие её методы лечения оказывают влияние на различные критические клеточные пути [12]. Таким образом, такие условия могут обеспечить синергический эффект [13]. На сегодняшний день опубликованы многочисленные данные о комбинированном применении ФДТ с традиционными и инновационными методами лечения злокачественных новообразований.

Большое место в исследованиях отводится комбинированному применению ФДТ в сочетании с химиотерапевтическими препаратами (ХТ), которые могут быть разделены на две большие категории в соответствии с их прямым или косвенным воздействием на ДНК. В группу препаратов, которые оказывают непосредственное воздействие на ДНК, входят алкилирующие агенты, противоопухолевые антибиотики и ингибиторы топоизомеразы.

Цисплатин и его производные (оксалиплатин и карбоплатин) используются при лечении различных новообразований, в том числе, при лечении саркомы, лимфомы, мелкоклеточного рака и рака яичников [14]. Тем не менее, несмотря на их хорошую клиническую эффективность, применение этих препаратов часто ограничивается из-за риска развития серьёзных неблагоприятных токсических эффектов, так как эти препараты, не обладающие необходимой опухоле-

вой селективностью, также проявляют значительную токсичность по отношению к нормальным тканям [15, 16]. В ряде работ были получены положительные результаты при проведении экспериментальных исследований на лимфомах мышей по изучению эффективности комбинированного применения ФДТ (фотофрин) и цисплатина [17].

Улучшенный цитотоксический и апоптотический эффект был продемонстрирован при комбинированном воздействии ФДТ и цисплатина на клетки рака пищевода [18]. Синергическое антипролиферативное действие ФДТ с использованием гематопорфирина и цисплатина продемонстрировали при воздействии на раковые клетки мочевого пузыря [19]. Карбоплатин (менее нефротоксичный аналог цисплатина) был использован в комбинации с ФДТ при воздействии на клеточные линии рака головы и шеи. Было показано усиление цитотоксического воздействия цисплатина, и зарегистрированы проапоптотические эффекты [20].

На основании результатов опубликованных работ очевидно, что комбинированное использование ФДТ и цисплатина приводит к синергическому эффекту. В свою очередь, следует изучить возможность снижения дозы неизбежно токсичного противоопухолевого препарата цисплатин без ущерба для общей терапевтической эффективности. Представленные выше данные послужили основой и для проведения нашей работы, главная цель которой – разработка и изучение эффективности комбинированной терапии (ФДТ и ХТ) саркомы М-1 у крыс с использованием различных доз фотолон и цисплатина при различных схемах проведения лечения.

Материалы и методы

Исследования были проведены на 183 беспородных крысах. В качестве экспериментальной модели опухоли использовали саркому М-1 крыс, которую перевивали в область бедра под кожу в виде кусочков опухоли донора на 7-9 день после перевивки, когда опухоль достигала 1,0 см в диаметре. Перед перевивкой депилировали шерстный покров.

В процессе исследования проводили:

I. Изучение динамики накопления ФС фотолон в опухоли и здоровой ткани крыс.

В связи с поставленной задачей крысам с саркомой М-1 вводили внутривенно фотолон в дозе 2,5 мг/кг. Уровень накопления фотолон в опухолевой и здоровой тканях изучали с помощью лазерной электронно-спектральной установки для флуоресцентной диагностики опухолей и контроля фотодинамической терапии (ЛЭСА-01-«Биоспек»). Волоконно-оптическим измерительным зондом этой установки проводили измерения из трёх точек опухоли: центральной и двух периферических. Накопление в здоровой ткани измеряли на здоровой ткани бедра с опухолью (контроль № 1) и на противоположном бедре без опухоли (контроль № 2). Перед измерением шерстный покров депилировали. Измерения проводили до введения фотолон и через 30 минут, 1 час, 2 часа и 3 часа после введения. При изучении селективности накопления фотолон в опухоли по отношению к здоровой ткани определяли индекс контрастности (опухоль/здоровая ткань).

II. Изучение эффективности комбинированного воздействия на саркому М-1 в сравнении с каждой монотерапией.

В опыте комбинированной терапии (ФДТ+ХТ) животные были разбиты на 8 групп. ФДТ проводили с внутривенным введением фотолон в разных дозах.

Источником лазерного излучения служил полупроводниковый медицинский лазерный аппарат «Аткус-2» (ЗАО «Полупроводниковые приборы», Санкт-Петербург) с длиной волны излучения 662 ± 1 нм. Диаметр светового пятна составлял 1,5 см. Объем опухоли измеряли до проведения лечения (V_0), и на 3, 7, 10, 14 и 21 сутки после лечения.

Параметры лазерного излучения были одинаковыми во всех группах: плотность энергии лазерного излучения E составила 300 Дж/см^2 , плотность мощности P_s – $0,49 \text{ Вт/см}^2$. Во время лазерного облучения животные находились под общим тиопенталовым наркозом.

Цисплатин вводили внутривенно в разных дозах и схемах.

Ниже приводятся схемы терапии, применённые в группах исследования:

- группа № 1: монотерапия – ФДТ (доза фотолон – $0,6 \text{ мг/кг}$);
- группа № 2: монотерапия – ХТ (доза цисплатина – $1,25 \text{ мг/кг}$);
- группа № 3: комбинированная терапия – ФДТ+ХТ (однократное введение фотолон – $0,6 \text{ мг/кг}$, цисплатина – $1,25 \text{ мг/кг}$ с последующим через 2 часа проведением ФДТ);
- группа № 4: комбинированная терапия – ФДТ+ХТ (однократное введение фотолон – $1,25 \text{ мг/кг}$, цисплатина – $1,65 \text{ мг/кг}$ с последующим через 2 часа проведением ФДТ);
- группа № 5: комбинированная терапия – ФДТ+ХТ (однократное введение фотолон – $2,5 \text{ мг/кг}$, цисплатина – $3,25 \text{ мг/кг}$ с последующим через 2 часа проведением ФДТ);
- группа № 6: комбинированная терапия – ФДТ+ХТ (доза фотолон – $0,6 \text{ мг/кг}$, $1,25 \text{ мг/кг}$ цисплатина вводится через 2 часа и 4 суток после ФДТ);
- группа № 7: комбинированная терапия – ФДТ+ХТ (фотолон – $0,6 \text{ мг/кг}$, с последующим после ФДТ через 1 сутки и 4 суток введением цисплатина – $1,25 \text{ мг/кг}$);
- контрольная группа № 8: крысы-опухоленосители без какого-либо воздействия.

Эффективность ФДТ оценивали:

1. по коэффициенту абсолютного прироста опухоли (К);
2. по торможению роста опухоли (ТРО, %);
3. по проценту животных в группе с полной регрессией опухоли (ПР).

За полную регрессию опухоли мы принимали отсутствие видимой и пальпируемой опухоли. Статистическую обработку результатов исследований проводили в компьютерной программе «Statistica», непараметрическими методами для независимых групп (описательная статистика, метод U-теста Манна-Уитни).

Результаты и обсуждение

I. Результаты изучения динамики накопления фотолон в опухоли и здоровой ткани крыс представлены на рис. 1. Уровень и селективность накопления ФС в опухоли, а также скорость его выведения из нормальной ткани являются важными характеристиками для ФДТ. Они влияют как на эффективность метода, так и на вероятность снижения побочных эффектов. Из данных, представленных на рис. 1, видно, что в течение 2 часов после внутривенного введения фотолон в дозе $2,5 \text{ мг/кг}$ происходит постепенное увеличение уровня накопления его как в опухоли, так и в здоровой ткани. Максимальный уровень накопления фотолон в опухоли наблюдался через 2 часа после его введения. Самый высокий показатель индекса контрастности мы наблюдали также через 2 часа. Этот 2-часовой интервал между введением фотолон и облучением оказался оптимальным для проведения ФДТ.

Рис. 1. Уровень накопления и индекс контрастности фотолон в саркоме М-1 и здоровой ткани крыс.

II. Результаты изучения эффективности комбинированного воздействия на саркому М-1 в сравнении с каждой монотерапией представлены в табл. 1.

Таблица 1
Результаты проведения монотерапии (ФДТ, ХТ) и комбинированной терапии

№ гр.	Схема опыта	Основные показатели	Сроки наблюдений				
			3 сутки	7 сутки	10 сутки	14 сутки	21 сутки
1	ФДТ 0,6 мг/кг	V K ТРО (%) ПР (%)	0,160±0,050 -0,27±0,17* 64,1 15,4	0,578±0,149 2,02±0,62* 51,4 7,7	1,050±0,251 4,95±1,42* 54,2 7,7	2,359±0,636 11,90 ±2,84* 45,0 15,4	5,355±1,333 28,97±6,90* 42,1 23,1
2	ХТ 1,25 мг/кг	V K ТРО (%) ПР (%)	0,237±0,030 2,09±0,40 46,9 0	0,322±0,069 2,86±0,58* 73,0 10,0	0,519±0,092 5,67±1,16* 77,4 10,0	1,134±0,240 13,38±2,85* 73,4 20,0	2,715±0,632 15,85±8,80 70,6 30,0
3	ФДТ+ХТ	V K ТРО (%) ПР (%)	Полная регрессия опухоли у 100% животных			0,001±0,001 -0,99±0,01* 99,9 87,5	0,077±0,051 -0,52±0,29* 99,2 50,0
4	ФДТ+ХТ	V K ТРО (%) ПР (%)	0,065±0,051 -0,57±0,32* 85,4 60,0	0,005±0,003 -0,96±0,03* 99,6 60,0	Полная регрессия опухоли у 100% животных		0,002±0,002 -0,98±0,02* 99,9 80,0
5	ФДТ+ХТ	V K ТРО (%) ПР (%)	Полная регрессия опухоли у 100% животных				0,048±0,048 -0,84±0,16* 99,5 85,7
6	ФДТ+ХТ	V K ТРО (%) ПР (%)	0,036±0,020 -0,73±0,16* 91,9 66,7	0,040±0,027 -0,68±0,21* 96,6 77,8	0,024±0,014 -0,82±0,11* 99,0 77,8	0,014±0,010 -0,91±0,06* 99,7 77,8	0,126±0,075 -0,35±0,38* 98,6 55,6
7	ФДТ+ХТ	V K ТРО (%) ПР (%)	0,052±0,035 -0,73±0,18* 88,3 77,8	0,061±0,041 -0,65±0,23* 94,9 77,8	0,051±0,039 -0,70±0,22* 97,8 77,8	0,006±0,004 -0,97±0,02* 99,8 77,8	0,010±0,010 -0,95±0,04* 99,9 88,9
8	Контроль	V K	0,446±0,042 2,20±0,25	1,191±0,098 8,29±0,92	2,294±0,261 16,62±2,00	4,258±0,482 35,51±5,05	9,252±0,918 73,84±8,33

Примечание: * $p < 0,050$ – снижение коэффициента абсолютного прироста опухоли статистически достоверно по сравнению с контролем.

Сокращения: объем опухоли – V; коэффициент прироста опухоли – K; торможение роста опухоли – ТРО (%); полная регрессия опухоли – ПР (%).

Группа № 1 (монотерапия – ФДТ): ПР составила 23,1%, ТРО – 42,1%.

Группа № 2 (монотерапия – ХТ): ПР – 30,0%, ТРО – 70,6%.

Группа № 3 (комбинированная терапия – ФДТ+ХТ: однократное введение фотолон – 0,6 мг/кг, цисплатина – 1,25 мг/кг и последующим через 2 часа проведением ФДТ): ПР – 50,0%, ТРО – 99,2%.

Группа № 4 (комбинированная терапия – ФДТ+ХТ: однократное введение фотолон – 1,25 мг/кг, цисплатина – 1,65 мг/кг с последующим через 2 часа проведением ФДТ): ПР – 80,0%, ТРО – 99,9%. При данном терапевтическом воздействии отмечалось ухудшение общего состояния животных.

Группа № 5 (комбинированная терапия – ФДТ+ХТ: однократное введение фотолон – 2,5 мг/кг, цисплатина – 3,25 мг/кг с последующим через 2 часа проведением ФДТ): ПР – 85,7%, а ТРО – 99,5%. В этой группе на 21 сутки после лечения отмечалось значительное увеличение ингибирующего эффекта. До 14 суток исследования наблюдалась ПР саркомы М-1 у 100% животных, но на 21 сутки происходил продолженный рост опухоли у 14,3% животных. И хотя при данных дозах препаратов мы наблюдали усиление противоопухолевого эффекта, но одноразовая доза химиопрепарата (3,25 мг/кг) оказалась значительно токсичнее: наблюдалось ухудшение общего состояния животных, снижение двигательной активности, потеря веса.

Группа № 6 (комбинированная терапия – ФДТ+ХТ: доза фотолон – 0,6 мг/кг, 1,25 мг/кг цисплатина вводится через 2 часа и 4 суток после ФДТ): ПР – 55,6%, ТРО – 98,6%.

Группа № 7 (комбинированная терапия – ФДТ+ХТ: фотолон – 0,6 мг/кг, с последующим после ФДТ через 1 сутки и 4 суток введением цисплатина – 1,25 мг/кг): ПР – 88,9%, ТРО – 99,9%.

Ингибирующий эффект на конец исследования после данного комбинированного воздействия с меньшей дозой фотолон (0,6 мг/кг) и цисплатина (2,5 мг/кг) практически не отличался от комбинированного лечения при однократном одновременном введении ФС в дозе 2,5 мг/кг и дозе цисплатина – 3,25 мг/кг (группа № 5), но при этом токсического воздействия на животных при двукратном дробном введении химиопрепарата мы не наблюдали.

Ингибирующий эффект при комбинированном лечении оказался выше, чем при монотерапии каждого из них, при этом эффективность комбинированного лечения зависит не только от доз препаратов, но и схемы проведённого лечения. Выраженный ингибирующий эффект мы наблюдали при комбинированной ФДТ с внутрибрюшинным введением фотолон в дозе 1,25 мг/кг и цисплатина в дозе 1,65 мг/кг (ПР – 80,0%, ТРО – 99,9%). Но на 21 сутки наблюдался продолженный рост опухоли у 20% животных из этой группы. Увеличение дозы фотолон и цисплатина при комбинированном воздействии оказалось малоэффективно в плане увеличения противоопухолевой эффективности. Наиболее значительную противоопухолевую эффективность наблюдали при комбинированной ФДТ с использованием фотолон в дозе 0,6 мг/кг, с последующим после ФДТ через 1 сутки и 4 суток введением цисплатина в дозе 1,25 мг/кг. До 21 суток исследования в этой 7 группе отмечали постепенное стабильное увеличение ингибирующего эффекта (ПР – 88,9%, ТРО – 99,9%).

Таким образом, максимальный ингибирующий эффект саркомы М-1 (ПР – 88,9%, ТРО – 99,9%) был получен при комбинированном воздействии ФДТ и ХТ по схеме лечения, включающей проведение ФДТ при внутрибрюшинном введении фотолон в дозе 0,6 мг/кг массы животного и лазерное излучение ($E = 300 \text{ Дж/см}^2$, $P_s = 0,49 \text{ Вт/см}^2$) и ХТ (двукратное внутрибрюшинное введение цисплатина в дозе 1,25 мг/кг через сутки и 4 суток после ФДТ).

В конце исследования коэффициент абсолютного прироста опухоли у животных во всех группах комбинированного воздействия достоверно был ниже по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). При монотерапии не во всех группах отмечалось достоверное снижение коэффициента или меньшая достоверная значимость ($p < 0,010 - 0,050$).

Заключение

Анализируя представленные результаты, мы с уверенностью можем утверждать, что комбинированная терапия с использованием ФДТ и ХТ является более эффективной по сравнению с каждой монотерапией.

Более того, очевидно, что комбинированная ФДТ с использованием фотолон и цисплатина приводит к синергическому эффекту, при этом появляется возможность снижения дозы цисплатина (по сравнению с его монотерапией) без ущерба для общей эффективности лечения.

Литература

1. **Dougherty T.J.** An update on photodynamic therapy applications //J. Clin. Laser Med. Surg. 2002. V. 20. P. 3-7.
2. **Foote C.S.** Definition of type I and type II photosensitized oxidation //Photochem. Photobiol. 1991. V. 54. P. 659-672.
3. **Hatz S., Lambert J.D., Ogilby P.R.** Measuring the lifetime of singlet oxygen in a single cell: addressing the issue of cell viability //Photochem. Photobiol. Sci. 2007. V. 6. P. 1106-1116.
4. **Niedre M., Patterson M.S., Wilson B.C.** Direct near-infrared luminescence detection of singlet oxygen generated by photodynamic therapy in cells *in vitro* and tissues *in vivo* //Photochem. Photobiol. 2002. V. 75, N 4. P. 382-391.
5. **Castano A.P., Demidova T.N., Hamblin M.R.** Mechanisms in photodynamic therapy: part two – Cellular signalling, cell metabolism and modes of cell death //Photodiagn. Photodyn. Ther. 2005. V. 2. P. 1-23.
6. **Oleinick N.L., Morris R.L., Belichenko I.** The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: what, where, why, and how //Photochem. Photobiol. Sci. 2002. V. 75, N 1. P. 1-21.
7. **Krammer B.** Vascular effects of photodynamic therapy //Anticancer Res. 2001. V. 21. P. 4271-4277.
8. **Van Duijnhoven F.H., Aalbers R.I., Rovers J.P., Terpstra O.T., Kuppen P.J.** The immunological consequences of photodynamic treatment of cancer, a literature review //Immunobiology. 2003. V. 207. P. 105-113.
9. **Canti G., De Simone A., Korbelik M.** Photodynamic therapy and the immune system in experimental oncology //Photochem. Photobiol. Sci. 2002. V. 75, N. 1. P. 79-80.
10. **Verma S., Watt G.M., Mai Z., Hasan T.** Strategies for enhanced photodynamic therapy effects //Photochem. Photobiol. 2007. V. 83, N 5. P. 996-1005.
11. **Varriale L., Coppola E., Quarto M., Veneziani B.M., Palumbo G.** Molecular aspects of photodynamic therapy: low energy pre-sensitization of hypericin-loaded human endometrial carcinoma cells enhances phototolerance, alters gene expression and affects the cell cycle //FEBS Lett. 2002. V. 512. P. 287-290.
12. **Crescenzi E., Varriale L., Iovino M., Chiaviello A., Veneziani B.M., Palumbo G.** Photodynamic therapy with indocyanine green complements and enhances low-dose cisplatin cytotoxicity in MCF-7 breast cancer cells //Mol. Cancer Ther. 2004. V. 5. P. 537-544.
13. **del Carmen M.G., Rizvi I., Chang Y., Moor A.C., Oliva E., Sherwood M., Pogue B., Hasan T.** Synergism of epidermal growth factor receptor-targeted immunotherapy with photodynamic treatment of ovarian cancer *in vivo* //J. Natl. Cancer Inst. 2005. V. 20. P. 1516-1524.
14. **Crul M., van Waardenburg R.C.A. M., Beijnen J.H., Schellens J.H.M.** DNA-based drug interactions of cisplatin //Cancer. 2002. V. 28. P. 291-303.
15. **Culine S.** The present and future of combination chemotherapy in bladder cancer //Semin. Oncol. 2002. V. 29. P. 32-39.
16. **Rajeswaran A., Trojan A., Burnand B., Giannelli M.** Efficacy and side effects of cisplatin- and carboplatin-based doublet chemotherapeutic regimens versus non-platinum-based doublet chemotherapeutic regimens as first line treatment of metastatic non-small cell lung carcinoma: a systematic review of randomized controlled trials //Lung Cancer. 2008. V. 59. P. 1-11.
17. **Nonaka M., Ikeda H., Inokuchi T.** Effect of combined photodynamic and chemotherapeutic treatment on lymphoma cells *in vitro* //Cancer Lett. 2002. V. 184. P. 171-178.
18. **Compagnin C., Mognato M., Celotti L., Canti G., Palumbo G., Reddi E.** Cell proliferation and cell cycle alterations in oesophageal p53-mutated cancer cells treated with cisplatin in combination with photodynamic therapy //Cell Prolif. 2010. V. 43. P. 262-274.

19. **Lottner C., Knuechel R., Bernhardt G., Brunner H.** Combined chemotherapeutic and photodynamic treatment on human bladder cells by hematoporphyrin-platinum (II) conjugates //Cancer Lett. 2004. V. 203. P. 171-180.
20. **He P., Ahn J.C., Shin J.I., Hwang H.J., Kang J.W., Lee S.J., Chung P.S.** Enhanced apoptotic effect of combined modality of 9-hydroxypheophorbide α -mediated photodynamic therapy and carboplatin on AMC-HN-3 human head and neck cancer cells //Oncol. Rep. 2009. V. 21. P. 329-334.

Combination photodynamic therapy sarcomas M-1 in combination with chemotherapy

Kaplan M.A., Galkin V.N., Romanko Yu.S., Drozhzhina V.V., Arkhipov L.M.

A. Tsyb MRRC, Obninsk

Combination of photodynamic therapy and chemotherapy is promising approach for treatment of malignant neoplasms. The use of the modality allows achieving higher efficiency of the treatment, it also allows reducing dose of chemotherapeutics, hence lowering adverse effects of chemotherapy. In the article we present data of our study of efficiency of combined treatment of rats with sarcoma M-1. Photodynamic therapy with photolon and chemotherapy with cisplatin were used as treatment agents. Different treatment schedules and doses of administered photolon and cisplatin were used. Treatment effect was estimated by tumor absolute growth rate, inhibition of tumor growth, and complete tumor regression. We found that photodynamic therapy in 2 hours after photolon administration and administrations of cisplatin in 1 and 4 days after photodynamic therapy with total dose of the chemotherapeutic of 2.5 mg/kg is the most effective treatment schedule. To the end of the study complete regression was observed in 88.9% of rats, inhibition of tumor growth was observed in 99.9% of the animals. Results of the study allow us to conclude that combination of photodynamic therapy with cisplatin is more efficient treatment modality as compared with the delivery of each therapy individually. We found that the use of the most effective treatment schedule resulted in the synergistic effect, therefore reduction of cisplatin dose did not affect treatment efficiency.

Key words: combination therapy, photosensitizer, photolon, laser radiation, cisplatin, sarcoma M-1 rats, index of absolute growth tumor, inhibition rate of tumor growth, complete regression, index contrast.

References

1. **Dougherty T.J.** An update on photodynamic therapy applications. *J. Clin. Laser Med. Surg.*, 2002, vol. 20, pp. 3-7.
2. **Foote C.S.** Definition of type I and type II photosensitized oxidation. *Photochem. Photobiol.*, 1991, vol. 54, pp. 659-672.
3. **Hatz S., Lambert J.D., Ogilby P.R.** Measuring the lifetime of singlet oxygen in a single cell: addressing the issue of cell viability. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2007, vol. 6, pp. 1106-1116.
4. **Niedre M., Patterson M.S., Wilson B.C.** Direct near-infrared luminescence detection of singlet oxygen generated by photodynamic therapy in cells *in vitro* and tissues *in vivo*. *Photochem. Photobiol.*, 2002, vol. 75, no. 4, pp. 382-391.
5. **Castano A.P., Demidova T.N., Hamblin M.R.** Mechanisms in photodynamic therapy: part two – Cellular signalling, cell metabolism and modes of cell death. *Photodiagn. Photodyn. Ther.*, 2005, vol. 2, pp. 1-23.
6. **Oleinick N.L., Morris R.L., Belichenko I.** The role of apoptosis in response to photodynamic therapy: what, where, why, and how. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2002, vol. 75, no. 1, pp. 1-21.

Kaplan M.A.* – Head of Dep., MD, Prof.; **Galkin V.N.** – Director, MD, Prof.; **Romanko Yu.S.** – Head of Dep., MD, Prof.; **Drozhzhina V.V.** – Research Assistant; **Arkhipova L.M.** – Research Assistant. A. Tsyb MRRC.

*Contacts: 4 Korolyov str., Obninsk, Kaluga region, Russia, 249036. Tel.: +7 (484) 399-30-26; e-mail: kaplan@mrcc.obninsk.ru.

7. **Krammer B.** Vascular effects of photodynamic therapy. *Anticancer Res.*, 2001, vol. 21, pp. 4271-4277.
8. **Van Duijnhoven F.H., Aalbers R.I., Rovers J.P., Terpstra O.T., Kuppen P.J.** The immunological consequences of photodynamic treatment of cancer, a literature review. *Immunobiology*, 2003, vol. 207, no. 2, pp. 105-113.
9. **Canti G., De Simone A., Korbelik M.** Photodynamic therapy and the immune system in experimental oncology. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 2002, vol. 75, no. 1, pp. 79-80.
10. **Verma S., Watt G.M., Mai Z., Hasan T.** Strategies for enhanced photodynamic therapy effects. *Photochem. Photobiol.*, 2007, vol. 83, no. 5, pp. 996-1005.
11. **Varriale L., Coppola E., Quarto M., Veneziani B.M., Palumbo G.** Molecular aspects of photodynamic therapy: low energy pre-sensitization of hypericin-loaded human endometrial carcinoma cells enhances phototolerance, alters gene expression and affects the cell cycle. *FEBS Lett.*, 2002, vol. 512, pp. 287-290.
12. **Crescenzi E., Varriale L., Iovino M., Chiaviello A., Veneziani B.M., Palumbo G.** Photodynamic therapy with indocyanine green complements and enhances low-dose cisplatin cytotoxicity in MCF-7 breast cancer cells. *Mol. Cancer Ther.*, 2004, vol. 5, pp. 537-544.
13. **del Carmen M.G., Rizvi I., Chang Y., Moor A.C., Oliva E., Sherwood M., Pogue B., Hasan T.** Synergism of epidermal growth factor receptor-targeted immunotherapy with photodynamic treatment of ovarian cancer *in vivo*. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2005, vol. 20, pp. 1516-1524.
14. **Crul M., van Waardenburg R.C.A. M., Beijnen J.H., Schellens J.H.M.** DNA-based drug interactions of cisplatin. *Cancer*, 2002, vol. 28, pp. 291-303.
15. **Culine S.** The present and future of combination chemotherapy in bladder cancer. *Semin. Oncol.*, 2002, vol. 29, pp. 32-39.
16. **Rajeswaran A., Trojan A., Burnand B., Giannelli M.** Efficacy and side effects of cisplatin- and carboplatin-based doublet chemotherapeutic regimens *versus* non-platinum-based doublet chemotherapeutic regimens as first line treatment of metastatic non-small cell lung carcinoma: a systematic review of randomized controlled trials. *Lung Cancer*, 2008, vol. 59, pp. 1-11.
17. **Nonaka M., Ikeda H., Inokuchi T.** Effect of combined photodynamic and chemotherapeutic treatment on lymphoma cells *in vitro*. *Cancer Lett.*, 2002, vol. 184, pp. 171-178.
18. **Compagnin C., Mognato M., Celotti L., Canti G., Palumbo G., Reddi E.** Cell proliferation and cell cycle alterations in oesophageal p53-mutated cancer cells treated with cisplatin in combination with photodynamic therapy. *Cell Prolif.*, 2010, vol. 43, pp. 262-274.
19. **Lottner C., Knuechel R., Bernhardt G., Brunner H.** Combined chemotherapeutic and photodynamic treatment on human bladder cells by hematoporphyrin-platinum (II) conjugates. *Cancer Lett.*, 2004, vol. 203, pp. 171-180.
20. **He P., Ahn J.C., Shin J.I., Hwang H.J., Kang J.W., Lee S.J., Chung P.S.** Enhanced apoptotic effect of combined modality of 9-hydroxypheophorbide α -mediated photodynamic therapy and carboplatin on AMC-HN-3 human head and neck cancer cells. *Oncol. Rep.*, 2009, vol. 21, pp. 329-334.