



УДК 616.441.-006.6-092.9:615.252

© 2010

В. М. Пушкарьов, Д. В. Старенький, В. О. Саєнко,
член-кореспондент НАН України М. Д. Тронько

Посилення цитотоксичної дії таксолу щодо анапластичного раку щитоподібної залози γ-опроміненням

*Вивчали ефекти таксолу, γ-опромінення та їх комбінації на виживаність клітин низькодиференційованого раку щитоподібної залози та ріст ксенотрансплантованих пухлин, що походять з цих клітин. Показано, що γ-опромінення впливає на життєздатність пухлинних клітин неістотно, а найбільш ефективними є низькі (1–2 Гр) дози іонізуючої радіації. У досліджах *in vivo* опромінення також не зупиняло ріст пухлин – спостерігалося тільки його гальмування. Таксол виявився значно ефективнішим, а за комбінованої дії радіації та таксолу розмір пухлин зменшувався до 0–0,3% від контролю. Таким чином, комбіноване застосування таксолу та низьких доз γ-опромінення є перспективною стратегією для подальших доклінічних і клінічних досліджень, що мають за мету розробку нових терапевтичних підходів для лікування недиференційованого раку щитоподібної залози.*

Таксол успішно використовується для лікування багатьох видів злоякісних пухлин [1]. Показана можливість його застосування для лікування анапластичного раку щитоподібної залози (ЩЗ) і як сольного препарату, і в комбінації з іншими протипухлинними терапевтичними засобами [2–5]. Дані, одержані в досліджах *in vitro*, свідчать про те, що іонізуюча радіація (ІР) помітно посилює цитотоксичний ефект таксолу в клітинах анапластичного раку [6].

Метою дослідження було вивчення комбінованої дії низьких доз таксолу та низьких доз радіації щодо ксенотрансплантованих пухлин, що походять з клітин раку ЩЗ людини.

Клітини культивували в середовищі RPMI-1640 як описано раніше [2, 6]. Визначення життєздатності клітин проводили, культивуючи клітини в 96-лункових планшетах з пластиком дном у цьому ж середовищі, що містило 5% FBS. Суспензію клітин (100 мкл, 1000 клітин на лунку) вносили в лунки і інкубували протягом 24 год. Таксол, розчинений у диметилсульфоксиді (ДМСО), додавали в об'ємі 10 мкл у зростаючих концентраціях, по 6 лунок на

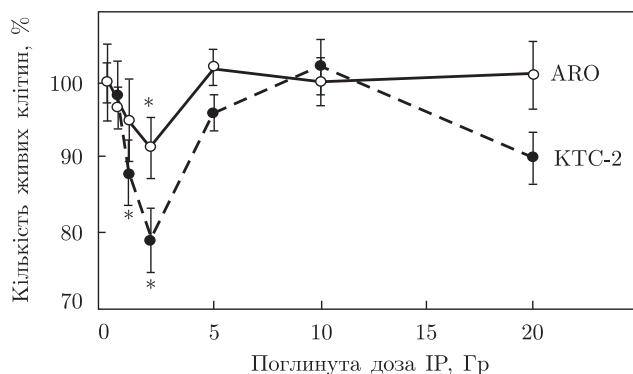


Рис. 1. Вплив γ -опромінення (IP) на виживаність клітин раку ЩЗ ліній KTC-2 та ARO. $M \pm SD$, $n = 6$. * — відміни від контролю (неопромінені клітини) вірогідні, $P < 0,05$

кожну концентрацію. У контрольні проби додавали в такій самій кількості ДМСО. Кінцева концентрація ДМСО не перевищувала 0,1%. Після інкубації в лунки вносили по 11 мкл розчину з набору для підрахунку клітин (ССК-8, “Dojin”, Японія), інкубували протягом 1 год при 37 °С і вимірювали оптичну густина при 450 нм.

Об’єктом дослідження були миші BALB/c nu/nu (8-тижневі самки, трансгенні, безтуморні) масою 25 мг. Тварин розділили на чотири групи по дев’ять особин у кожній: I — контроль; II — тварини, яким вводили таксол; III — тварини, яких опромінювали γ -променями; IV — тварини, яких піддавали комбінованій дії таксолу та γ -опромінення. Досліди *in vivo* виконували на ксенотрансплантатах. Для цього тваринам підшкірно вводили в стегно задньої лапки суспензію клітин FRO суспендованих у RPMI-1640 ($5 \cdot 10^6$ клітин на тварину). Розмір пухлини вимірювали через день і розраховували за формулою $a^2b \cdot 0,4$, де a — найменший діаметр пухлини, а b — діаметр пухлини, перпендикулярний до a . Лікування таксолем та γ -опромінення починали після того, як розмір пухлин наближався до 100 мм³. Таксол (10 мг/кг на добу) вводили внутрішньочеревно в суміші, що складалася з Cremophor EL (“Sigma”, США), етанолу та PBS (1 : 1 : 1). Мишам контрольної групи вводили в такій самій кількості цю суміш без препарату.

Клітини та тварин опромінювали на установці потужністю 1 Гр/хв фірми “Роду” (Японія), модель PS-3100SB з джерелом випромінювання ¹³⁷Cs (γ ; 0,662 MeV). Тварин фіксували в спеціальних станках і опромінювали пухлину дозою 5 Гр.

Статистичну обробку даних проводили за Стьюдентом. Значення $P < 0,05$ вважали за вірогідні.

Згідно з одержаними даними, дія IP на клітини анапластичного раку ЩЗ не є досить ефективною щодо їх життєздатності (рис. 1). Більш чутливими до дії радіації виявились клітини анапластичного раку лінії KTC-2, можливо за рахунок наявності активного гена *TP53*, який є мутованим у клітинах лінії ARO, що зумовлює їх вищу стійкість до апоптозу. Звертає на себе увагу більша ефективність низьких доз радіації — 1–2 Гр.

Досить низький ефект IP щодо життєздатності пухлинних клітин підтверджують дослідження *in vivo* (рис. 2). Виявлено, що трансплантовані мишам клітини раку ЩЗ швидко формували пухлину, розмір якої на 20-ту добу становив понад 1000% від початкового (100 мм³). Під впливом опромінення розмір пухлин не зменшувався — відбувалося тільки гальмування їх росту. Дія таксолу є значно ефективнішою. Вже на 11-ту добу після початку введення таксолу спостерігалось вірогідне зменшення пухлин порівняно з її початковим розміром.

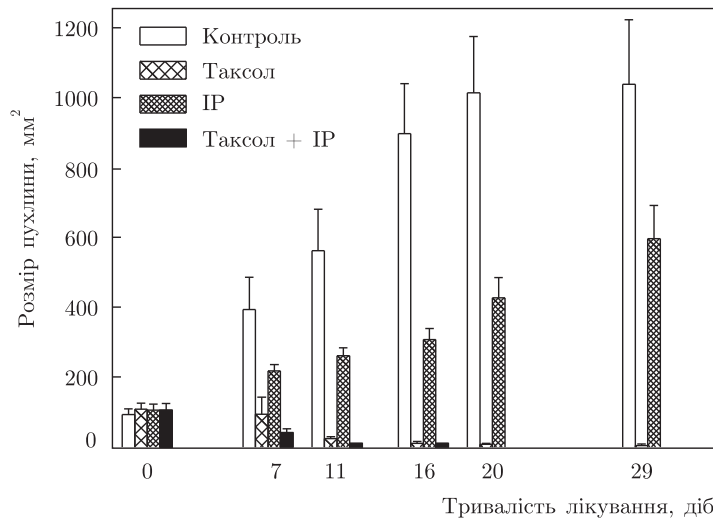


Рис. 2. Вплив таксолу, ІР та їх комбінації на ріст трансплантованих пухлин, що походять з клітин раку ЩЗ. Наведено усереднені дані по двох дослідях з використанням 9 тварин у кожній експериментальній групі. $M \pm SD$

На 20–29-ту добу розмір пухлини становив 0,8–1% від контрольного. Ще більш ефективною виявилась комбінована дія ІР та таксолу. Розмір пухлин вже на 7-му добу після початку лікування вірогідно зменшувався, а на 20–29-ту добу становив 0,3% від контролю, причому в деяких тварин пухлини зникали повністю.

Таким чином, використання низьких (1–5 Гр) доз ІР приводить до істотного посилення ефекту таксолу щодо ксенотрансплантованих пухлин, що походять з низькодиференційованого раку ЩЗ, і така комбінація може бути рекомендована для подальших доклінічних та клінічних випробувань.

1. Kingston D. G. I. The shape of things to come: Structural and synthetic studies of taxol and related compounds // *Phytochemistry*. – 2007. – **68**. – P. 1844–1854.
2. Pushkarev V. M., Starenki D. V., Saenko V. A. et al. Molecular mechanism of the effects of low concentrations of taxol in anaplastic thyroid cancer cells // *Endocrinology*. – 2004. – **145**, No 7. – P. 3143–3152.
3. Xu G., Pan J., Martin C., Yeung S.-C. J. Angiogenesis inhibition in the in vivo antineoplastic effect of manumycin and paclitaxel against anaplastic thyroid carcinoma // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* – 2001. – **86**, No 4. – P. 1769–1777.
4. Пушкарьов В. М., Старенький Д. В., Гончарук В. М. та ін. Комбінована дія паклітакселю та селективного інгібітора NFκB дегідроксиметилепоксиквіноміцину на клітини фолікулярного раку щитоподібної залози // *Доп. НАН України*. – 2008. – № 10. – С. 182–185.
5. Yeung S.-C. J., She M., Yang H. et al. Combination chemotherapy including combretastatin A4 phosphate and paclitaxel is effective against anaplastic thyroid cancer in a nude mouse xenograft model // *J. Clin. Endocrinol. and Metabol.* – 2007. – **92**, No 8. – P. 2902–2909.
6. Пушкарьов В. М., Старенький Д. В., Попадюк І. Д. та ін. Ефект комбінованої дії таксолу та іонізуючої радіації на клітини анапластичного раку щитоподібної залози // *Доп. НАН України*. – 2009. – № 5. – С. 209–212.

Державна установа “Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В. П. Комісаренка АМН України”, Київ

Надійшло до редакції 22.06.2009

V. M. Pushkarev, D. V. Starenki, V. O. Saenko,
Corresponding Member of the NAS of Ukraine **M. D. Tronko**

The enhancement of cytotoxic action of Taxol on thyroid anaplastic cancer by γ -irradiation

*The effects of Taxol, γ -irradiation, and their combination on the survival of undifferentiated thyroid cancer cells and the growth of xenograft tumors derived from these cells are studied. The effect of γ -irradiation on the cancer cells survival is not very significant, and most efficient turned out low (1–2 Gy) doses of ionizing radiation. In the *in vivo* experiments, irradiation also did not stop the growth of tumors – we observed the retardation of their growth only. Taxol occurred much more effective, and the combined action of radiation and the drug caused the decrease of tumor volume to 0–0.3% of control. Thus, the combination of Taxol and low doses of γ -irradiation is a promising strategy for further preclinical and clinical trials aimed at the development of new therapeutic approaches to the treatment of undifferentiated thyroid cancer.*