

Радиорезистентность опухоли и пути ее преодоления (обзор литературы)

Ю.А. Барсуков, А.Г. Малихов, С.И. Ткачев, Д.В. Кузьмичев

ФГБНУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина»; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24

Контакты: Юрий Андреевич Барсуков и barsukov@mail.ru

Представлен обзор отечественной и зарубежной литературы по применению радиомодификаторов, обладающих электронакцепторными свойствами (метронидазол (МЗ) и его производные) с целью повышения эффективности лучевой терапии. Рассмотрен механизм действия и характеристика препаратов электронакцепторной группы. Особо внимание обращено на создание новой лечебной формы МЗ в виде гидрогеля на основе биополимера альгината натрия и включение его в комплексное лечение операбельного и местнораспространенного рака прямой кишки.

Ключевые слова: электронакцепторные соединения, метронидазол и его производные

DOI: 10.17650/2220-3478-2015-1-9-19

Radioresistance of the tumor and its solutions (literature review)

Yu.A. Barsukov, A.G. Malikhov, S.I. Tkachev, D.V. Kuzmichev

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center; 24 Kashirskoye Shosse, Moscow, 115478, Russia

Presented article is a review of domestic and foreign literature on the application of radiomodifying drugs with electron-affinic properties (metronidazole and its derivatives) with the aim of increasing the effectiveness of radiation therapy. The mechanism of action and properties of the electron-affinic drugs of is described. Special attention is paid to the creation of a new medicinal form of metronidazole with the hydrogel-based biopolymer and its inclusion in combined treatment of resectable and locally advanced rectal cancer.

Key words: electronacceptor compounds, metronidazole and its derivatives

В проведении лучевой терапии (ЛТ) в том или ином варианте в настоящее время нуждаются около 70 % больных злокачественными новообразованиями [1]. Большое влияние на эффективность ЛТ оказывает исходная радиорезистентность опухолевых клеток, которая значительно варьирует как среди опухолей различного происхождения, так и среди новообразований одной и той же локализации и гистогенеза у индивидуальных больных [2]. Поэтому разработка методов избирательного повышения радиочувствительности опухоли и защита окружающих ее нормальных тканей остается одной из основных задач радиобиологии и клинической радиологии. В этом направлении дальнейшее улучшение результатов ЛТ онкологических больных связывают с использованием корпускулярных излучений (нейтроны, протоны, позитроны, пи-мезоны, бета-частицы), оптимизацией пространственно-временного распределения дозы ионизирующей радиации и/или с применением физических и химических радиомодификаторов [1].

В основе действия радиомодификаторов (химических, физических) лежит способность изменять радиочувствительность опухолевых клеток. Средства, повышающие радиочувствительность, особенно ра-

диорезистентной гипоксической фракции опухолевых клеток, получили название радиосенсибилизаторов. В случае совместного применения нескольких радиосенсибилизаторов возможны 3 варианта усиления лучевого поражения опухоли в процессе ЛТ. Ответ может быть меньше, чем сумма эффектов от каждого из них, равным ему или большим. В первом случае комбинированное действие называют субаддитивным, во втором – аддитивным или независимым, а в последнем – синергизмом, супрааддитивным или потенцированием [2].

Целью данного обзора является рассмотрение механизмов радиосенсибилизирующего действия и клинического применения одной групп радиомодификаторов – электронакцепторных соединений (ЭАС) метронидазола (МЗ) и его аналогов.

Электронакцепторные соединения и их характеристика

Г.Е. Adams и С.М. Dewey впервые в 1973 г. обнаружили, что соединения, обладающие электронакцепторными свойствами (ЭАС), могут имитировать эффект кислорода, фиксируя обратимые повреждения ДНК клетки, вызванные индуцированными радиацией свободными радикалами [3].

В отличие от кислорода, ЭАС медленно метаболизируются клеткой и поэтому могут диффундировать в гипоксические зоны солидных опухолей [4, 5]. Исследования действия различных производных бензола на опухолевые клетки показали, что эффект радиосенсибилизации наиболее выражен у веществ, содержащих в своем составе кольцевую нитрогруппу. Наиболее выраженные электронакцепторные свойства, связанные с наличием нитрогруппы, были обнаружены у нитрофуранов. Эта группа нитроароматических веществ получила широкое распространение в клинической практике в качестве антибактериальных препаратов [6].

Препараты группы 5-нитроимидазола (5-НИМЗ) – высокоактивные антимикробные препараты широкого спектра действия для системного лечения инфекций, вызванных облигатными анаэробными бактериями, и ряда инфекционных заболеваний, вызванных простейшими. С точки зрения химического строения 5-НИМЗ – это синтетические низкомолекулярные соединения, содержащие нитрогруппу (NO_2) в положении 5-го имидазольного цикла [7].

В 1957 г. был синтезирован 5-НИМЗ – МЗ, который уже в 1960 г. был применен в клинике для лечения трихомонадной инфекции (рис. 1). 5-НИМЗ характеризуются оптимальными фармакокинетическими свойствами. Важными являются показатели высокой биодоступности препаратов в пределах 80–100 % и быстрое всасывание при приеме перорально. Для парентерального введения используется гемисукцинат метронидазола. Препараты этой группы незначительно связываются с белками плазмы (на 10–20 %), имеют большой объем распределения, хорошо проникают в жидкости и ткани организма и обеспечивают высокие тканевые концентрации [8].

Биодоступность МЗ находится на уровне 100 %. Максимальная концентрация после приема внутрь достигается через 1–2 ч и составляет, в зависимости от дозы, от 6 до 40 мг/л. Связывание с белками плазмы – до 20 %, время полувыведения 9 (6–10) ч. [9]. При повторных введениях кумулирует. 5-НИМЗ обеспечивают высокие концентрации в ткани мозга, что существенно отличает эту группу препаратов.

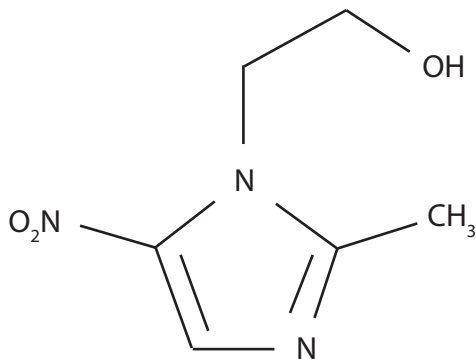


Рис. 1. Строение метронидазола

Концентрации 5-НИМЗ в различных тканях и жидкостях организма при применении терапевтических доз, в том числе перорально, достигают 70–94 % от сыровоточных концентраций. 5-НИМЗ медленно выводятся из организма. Как указано выше, период полувыведения для МЗ находится в пределах 6–10 ч. Медленное выведение 5-НИМЗ частично связано с реабсорбцией препаратов в почечных канальцах. Препараты хорошо всасываются при введении ректально и интравагинально. МЗ метаболизируется в печени. Основными метаболитами являются их гидроксипроизводные, которые характеризуются антианаэробной и антипротозойной активностью и также медленно, как исходный препарат, выводятся из организма. Соответственно наблюдается усиление антимикробного эффекта (совместное действие), хотя эти метаболиты несколько менее активны, чем исходный 5-НИМЗ. Кроме активных образуются и метаболиты, не обладающие антимикробным действием [7]. Препараты выводятся главным образом почками – до 60–85 % от принятой дозы (в зависимости от препарата). При этом от 4 до 12–20 % составляет неизменный препарат, а остальное – различные метаболиты; от 6 до 15 % от введенной дозы в неизменном виде выводится с желчью и фекалиями.

Все 5-НИМЗ при применении в рекомендуемых терапевтических дозах, как правило, хорошо переносятся при различных путях введения. Для 5-НИМЗ не описаны тяжелые жизнеугрожающие побочные реакции, характерные для этой группы препаратов. Нежелательные реакции, в основном однотипные, которые могут наблюдаться при терапии 5-НИМЗ [8, 9]:

1. Со стороны желудочно-кишечного тракта – неприятный (металлический) вкус и/или сухость во рту, тошнота, диарея, боли в животе, рвота.
2. Со стороны центральной нервной системы – головная боль, головокружение, нарушение сна и координации движений, атаксия, при передозировке – депрессивные реакции, периферические невропатии, судорожные реакции.
3. Кожно-аллергические – сыпи, кожный зуд.
4. Со стороны кроветворной системы – лейкопения, нейтропения.
5. Местные реакции в области введения растворов – флебиты, тромбозы, боли. В эксперименте показано канцерогенное действие 5-НИМЗ в опытах на мышах и мутагенное действие в опытах на клетках бактерий и грибов. На клетках млекопитающих мутагенное действие не подтверждено.

6. Большой клинический опыт применения препаратов этой группы показывает безопасность 5-НИМЗ для человека с точки зрения индукции канцерогенеза. Результаты рандомизированного исследования более чем на 60 тыс. больных показывают, что частота возникновения опухолей в группе больных, получавших по различным показаниям метрони-

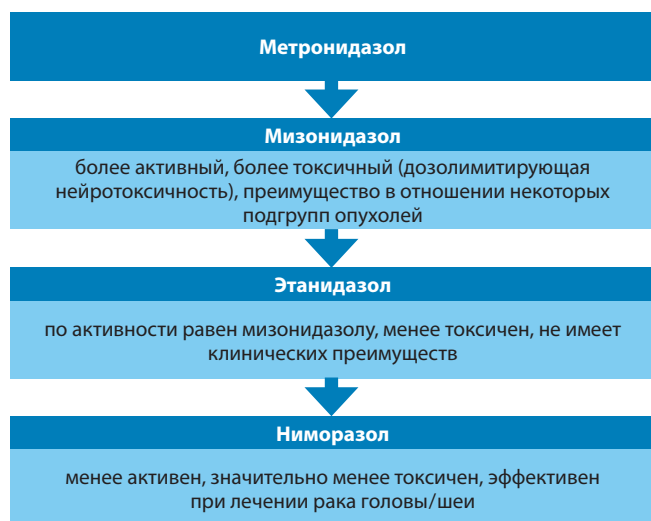


Рис. 2. Эволюция нитроимидазолов

дазол, не только не превышала, но была даже ниже, чем в контрольной группе пациентов, не получавших 5-НИМЗ [9].

В рамках исследования радиосенсибилизирующей активности в мире синтезировано большое количество 2 и 5 замещенных нитроимидазолов, однако клиническое значение имеют лишь некоторые из них. Эволюцию нитроимидазолов как радиомодификаторов гипоксических опухолевых клеток можно представить схематически следующим образом (рис. 2) [10].

Препараты отличаются величиной окислительно-восстановительного потенциала и липофильностью. С ростом значения окислительно-восстановительного потенциала и липофильности нарастает и токсичность, ограничивающая возможности клинического применения препарата [10]. Так, 2-замещенный нитроимидазол – мизонидазол (Ro-07-0582) – имеет более выраженные электронакцепторные свойства и более эффективен при сенсибилизации аноксических клеток, но при этом он в 3 раза токсичнее, чем МЗ. В большинстве случаев применения мизонидазола фиксируется выраженная токсичность препарата, приводящая к развитию периферических нейропатий у большинства пациентов через непродолжительное время после завершения ЛТ на фоне сенсибилизатора.

В России зарегистрированы 6 препаратов из группы 5-НИМЗ: метронидазол, тинадидазол, орнидазол, секнидазол, ниморазол, тернидазол. МЗ *in vitro* уступает многим производным нитрофуранов по радиосенсибилизирующей активности, однако этот показатель значительно возрастает с повышением концентрации МЗ [11].

Механизмы радиосенсибилизирующего действия электронакцепторных соединений

В настоящее время считается, что ЭАС некоторым образом имитируют внутриклеточное действие кислорода, принимающее непосредственное участие

в процессе радиационного поражения и пострадиационного восстановления клеток опухоли [12]. Для реализации внутриклеточной биологической активности ЭАС, в том числе радиосенсибилизирующего эффекта, требуется восстановление нитрогруппы этих препаратов, интенсивность которого зависит от электронакцепторной способности нитрогруппы в составе определенного химического соединения. Таким образом, основным действующим центром, имитирующим действие кислорода, является нитрогруппа [13].

Существует 3 основные модели радиосенсибилизирующего механизма действия ЭАС. Модель прямого действия, в рамках которой радиосенсибилизатор действует как ловушка электронов, возникающих в результате ионизации молекулы-мишени. Эта модель предполагает, что акцепция электронов сенсибилизатором конкурирует с нейтрализацией и увеличивает количество радикалов в макромолекулах. Вторая модель – фиксация радикалов, т.е. образование достаточно устойчивого комплекса радиосенсибилизатор – молекула ДНК [2]. В этом случае сенсибилизатор непосредственно связывается с радикалами, возникающими в результате прямого или непрямого действия ионизирующей радиации. Процессы фиксации повреждений конкурируют с процессами репарации, приводящими к ликвидации повреждений, вызванных свободными радикалами. Результатом этого является увеличение количества необратимых повреждений, приводящих клетку к гибели. Как полагают, именно этот механизм является основным в реализации «кислородного эффекта». Третий возможный механизм влияния – связывание гидратированного электрона сенсибилизатором и препятствие локальной рекомбинации ОН и гидратированного электрона, что увеличивает концентрацию реакционно способных радикалов ОН [11].

До настоящего времени не выяснено, какой из приведенных механизмов действия наиболее вероятен в клетках опухоли. В экспериментальных работах ЭАС обнаруживают как способность к акцептированию электрона с радикалов ДНК, так и к реакции с этими радикалами с образованием комплекса с макромолекулами ДНК. Очевидно, что при усилении электронакцепторной способности нитроимидазола начинает превалировать первый процесс. Очень велика вероятность, что в клетках опухоли эти процессы не исключают одновременного протекания друг друга и могут совместно формировать эффект действия данного препарата [11].

Одним из значимых аспектов воздействия ЭАС на клетки опухоли является токсическое воздействие комплекса сенсибилизатор – макромолекула и самого ЭАС, акцептировавшего электрон [14].

В условиях нормальной концентрации кислорода МЗ в широком диапазоне концентраций не оказывает

влияния на выживаемость клеток. Однако *in vitro* обнаружено избирательное цитотоксическое действие препарата на гипоксические клетки независимо от стадии цикла в присутствии выраженной степени гипоксии. Цитотоксическое действие МЗ прекращается уже при достижении концентрации кислорода 0,1 %. Эффект также зависит от температурного режима и исчезает при понижении температуры ниже 37° [15]. Принимая во внимание необходимость глубокой аноксии для цитотоксического действия МЗ, полагают, что этот эффект может быть обусловлен продуктами анаэробного восстановления нитрогруппы ЭАС под действием нитроредуктаз, например гидроксиламинами или нитрозосоединениями, способными необратимо связываться с макромолекулами клетки, отрывом Н-атома нитрорадикалами, образованными во время восстановления, индукцией одиночных разрывов ДНК, подавлением утилизации глюкозы и образованием лактата [16, 17].

Важное значение в реализации цитотоксического эффекта сенсibilизатора имеет его способность уменьшать концентрацию сульфгидрильных групп в составе SH-соединений, в частности, свободного глутатиона, внутриклеточное содержание которых, как известно, определяется клеточную радиочувствительность, выраженность кислородного эффекта и эффективность процессов пострadiационной репарации [18].

Одно из возможных направлений действия ЭАС — влияние на клеточное дыхание. Показано, что МЗ подавляет дыхание клеток асцитной карциномы Эрлиха и других экспериментальных опухолей. В связи с этим снижается потребление кислорода клетками и концентрация его может увеличиваться, что приводит к увеличению объема диффузии кислорода в аноксические области опухоли, в результате повышается радиочувствительность опухолевой клетки [19].

Аналогично радиомодифицирующему эффекту ЭАС увеличивают чувствительность опухолевых клеток к действию некоторых химиотерапевтических препаратов. В экспериментальных работах показано, что синергический эффект ЭАС отмечается не для всех химиопрепаратов. Например, мизонидазол усиливает эффект блеомицина, циклофосфамида, мелфалана, цисплатина и нитромочевины [20]. Механизмы хемосенсibilизации аналогичны таковым для радиосенсibilизации и цитотоксического действия ЭАС. Эффект хемосенсibilизации также наблюдается только в аноксических клетках [21].

Хемосенсibilизирующий эффект наблюдается при концентрации ЭАС значительно ниже, чем необходимо для радиосенсibilизирующего эффекта. Установлено, что мизонидазол начинает проявлять хемосенсibilизирующую активность при дозе 0,2 г/кг. Абсолютная величина хемосенсibilизирующего эффекта значительно выше, чем радиосенсibilизирующего,

так как первый развивается в отношении всех гипоксически метаболизирующих клеток опухоли, тогда как второй только в отношении жизнеспособных гипоксических клеток [22]. Из нежелательных эффектов следует отметить, что ЭАС хемосенсibilизируют не только гипоксические клетки опухоли, но и хорошо оксигенированные ткани костного мозга и кишечника, что затрудняет проведение совместной терапии ЭАС и химиопрепаратами.

Применение ЭАС для потенцирования эффекта 5-фторурацила было исследовано при лечении больных метастатическим раком прямой кишки. При этом МЗ применялся в дозе 0,8 г/м², т. е. значительно более низкой, чем используемая при ЛТ. При этом получены данные о значительном токсическом действии 5-фторурацила на костный мозг. Также обнаружена способность МЗ снижать скорость выведения препарата, что также усиливает токсичность.

Помимо указанных свойств, ЭАС проявляют способность к термосенсibilизации, особенно при гипертермическом воздействии на гипоксические зоны опухолей, обладающие низким рН [23, 24]. В экспериментальных работах показано значительное увеличение гибели опухолевых клеток в состоянии гипоксии под влиянием радиосенсibilизатора в условиях гипертермии [24].

Клиническое применение электронакцепторных соединений

Первые клинические испытания МЗ были проведены в Канаде R. C. Urtasun et al. на 25 больных [25]. Этому предшествовало тщательное исследование фармакологии и фармакокинетики МЗ у человека [26], которое показало, что радиосенсibilизатор обладает низкой токсичностью, широким распределением в тканях и относительно длительным периодом полураспада. Радиомодифицирующие свойства МЗ зависят не только от его фармакологических свойств, но и от концентрации последнего в крови и опухоли в момент воздействия на нее ионизирующего излучения [27]. Концентрация препарата в крови и опухоли зависит от его фармакологической формы и способа введения [28].

N. F. La-Russo в 1977 г. [29] провел исследование радиосенсibilизирующих свойств МЗ и установил, что усиление лучевых повреждений происходит при содержании последнего в крови не ниже 180–200 мкг/мл. Для достижения таких концентраций в крови при приеме препарата *per os* необходима доза 6–8 г/м², т. е. 24–32 таблетки по 250 мг на 1 м². Площадь поверхности тела у среднего человека больше 1,7 м². На один прием, таким образом, требуется как минимум 36–48 таблеток. После приема такого количества таблеток тошнота и рвота возникнет у всех пациентов, поскольку стандартная разовая доза, при которой уже возможны такие осложнения, превышена в 40–50 раз.

А.В. Karim в 1978 г. [30] опубликовал информацию о лечении 31 пациента, страдавшего раком головы и шеи III–IV стадии, с МЗ, который давали ежедневно по 5 г в 3 приема. Последнюю дозу (1 г) за 2 ч до облучения. У большинства больных отмечены признаки интоксикации – тошнота, рвота, головная боль, которые купировались медикаментозной терапией. Полная регрессия опухоли наблюдалась у 47 % больных, в то время как при проведении ЛТ без МЗ этот показатель составлял не более 30 %.

В конце 70-х – начале 80-х гг. XX века в СССР были начаты исследования электронацепторных радиомодификаторов и внедрение их в клиническую практику в основном по применению МЗ. Одну из первых работ по применению МЗ в клинике опубликовали Ю.Х. Саркисян и соавт. [31]. МЗ применяли орально в виде взвеси в дозе 5–10 г на прием за 2 ч до 1, 3, 5 фракций облучения на 1-м этапе лечения. Через 1,5–2 ч после приема МЗ у части больных непосредственно перед облучением брали биопсию из опухоли и определяли содержимое препарата в ткани спектрофотометрическим методом по методике, предложенной J.D. Charman et al. [27]. Эти исследования показали, что при данной схеме приема концентрация препарата в опухоли достигает требуемых величин и находится в пределах 200–240 мкг на 1 г ткани. При введении пациентам 5 г МЗ содержание его в опухоли – значительно ниже необходимого уровня.

М.С. Абдельлатиф в 1982 г. [32] применил МЗ в лучевом комбинированном лечении рака прямой кишки на 114 больных, 63 из них составили контрольную группу. МЗ применяли в дозе 3,5 г/м² за 3 ч до облучения в виде взвеси с фруктовыми или овощными соками перед 1, 3, 5 сеансами облучения, которое проводили ежедневно по 5 Гр до общей суммарной дозы 30 Гр. В группе больных, облученных на фоне приема МЗ, отмечено усиление радиопоражаемости опухоли, которое выразилось в увеличении индекса повреждения и достоверном снижении активности с повышением доли патологических митозов. У 27,4 % больных этой группы отмечены признаки интоксикации, выражавшиеся тошнотой, головокружением, сильной слабостью, рвотой, которые проявились через 5–6 ч после приема МЗ.

Одной из фундаментальных работ стало исследование Г.Д. Байсоголова и соавт. [33], в которой сообщалось об изучении эффективности МЗ при лучевом и комбинированном лечении опухолей желудка, шейки матки, мягких тканей лица, придаточных пазух носа. МЗ назначали в дозе 5–8 г/м² и вводили его разными способами: орально, ректально, комбинированно (1/2 – орально, 2/3 – ректально). Облучение проводили крупными фракциями. Концентрацию в сыворотке крови авторы определяли спектрофотометрическим методом в спиртовых вытяжках. Было отмечено, что интоксикационные проявления МЗ в значительной

степени зависят от способа введения препарата. Оптимальным оказался комбинированный способ введения.

Фармакологическое действие МЗ на организм как радиосенсибилизатора и его фармакокинетику изучали Б.М. Зельвин и соавт. [34]. МЗ применяли у больных раком гортани, пищевода. Было выяснено, что максимальная концентрация МЗ в крови больных определяется через 4 ч, а не через 2 ч, как полагали ранее. При пероральном приеме концентрация составляла 262 мкг/мл, что вполне достаточно для радиосенсибилизирующего эффекта. В работе также определен процент кумуляции МЗ в организме, который составил 20 % в сутки.

С.Л. Дарьялова и соавт. [35] проанализировали большой клинический материал о результатах лечения больных злокачественными новообразованиями различных локализаций. На основании изучения различных схем лечения при различных стадиях заболевания, подвергшихся облучению в различных режимах фракционирования доз на фоне радиомодификаторов и без них, авторы сделали следующие выводы:

- минимальной дозой МЗ при оральном введении, необходимой и достаточной для достижения эффекта радиосенсибилизации, является доза 5–8 г/м²;
- эффект радиосенсибилизации может быть получен при концентрации МЗ в крови минимум 150–200 мкг/мл и при использовании крупных фракций;
- при такой концентрации в крови токсические явления отмечаются у 2/3 больных;
- при комбинированном воздействии на опухоль ионизирующего облучения и МЗ эффект лечения пропорционален объему опухоли.

Заслуживает внимания факт зависимости динамики МЗ от возраста. Согласно данным исследования, опубликованного E. Ludwig et al. [36], в котором 2 возрастные группы пациентов (20–25 лет и 70 лет и старше) получали перорально МЗ. Обнаружено, что в возрастной группе плазменная концентрация МЗ была почти в 2 раза выше, чем в группе молодых пациентов. Авторы связывают это со скрытым снижением почечной экскреции и меньшим связыванием МЗ эритроцитами, на основании чего рекомендуют снижать дозу МЗ у возрастных пациентов на 30–40 %. Кроме изменения дозировки, режима введения и применения форсированного диуреза, предпринимались попытки влиять на динамику концентрации препарата, увеличивая скорость его поступления в гипоксические зоны опухоли и ускоряя выведение препарата из организма. В исследовании P. Workman [37] применением препарата фенитон совместно с мизонидазолом удалось снизить скорость полувыведения последнего с 10–13 ч до 7,5 ч, при этом пиковая концентрация препарата после введения не снизилась. В работах отечественных исследователей (С.Л. Дарьяловой [35], А.Г. Конопляникова [38], Г.Д. Байсоголова [39]) с це-

лю снижения частоты и выраженности побочных эффектов МЗ разработаны методики ускорения выведения с применением дезинтоксикационной терапии, инфузионной терапии полиионными растворами, растворами глюкозы, гемодеза и лазикса.

При проведении комплексной терапии, направленной на снижение токсичности имидазолов, рекомендовано использование дексаметазона, который, не изменяя кинетики препарата, способствует снижению количества побочных эффектов мизонидазола [40].

Один из апробированных методов увеличения содержания МЗ в клетках опухолей – использование специфического транспортера – диметилсульфоксида (ДМСО) [41]. При использовании этого компонента в составе аппликационной смеси с метронидазолом получены высокие концентрации МЗ в ткани опухоли при низких концентрациях в плазме крови. Помимо транспортных функций, ДМСО обладает некоторыми радиопротективными свойствами, что не уменьшает радиосенсибилизирующего действия МЗ [42].

В России в рамках исследования эффективности МЗ в качестве радиомодификатора была проведена Всесоюзная межведомственная программа «Модификатор». В ходе программы проведены испытания препарата в нескольких ведущих онкологических центрах в период с 1980 по 1986 г. в рамках I и II фазы исследований. В исследовании проведено комбинированное лечение в сочетании с метронидазолом 618 больных злокачественными новообразованиями различных локализаций преимущественно III и IV стадий заболевания. Помимо лечебной группы, в исследование включена контрольная группа в составе 760 пациентов.

По условиям исследования МЗ вводился перорально или комбинированным способом из расчета 5–8 г/м² (т.е. 150–200 мг/кг массы тела) за 4 ч до облучения. Суммарные дозы составляли от 20 до 60 г при длительности курса лечения от 1 до 6 нед. Препарат применялся в сочетании с дистанционной ЛТ различных вариантов фракционирования от 3,6 до 8,5 Гр для различных локализаций опухолей. Количество фракций также варьировало от 3 до 6. У большинства больных применение МЗ привело как к улучшению частоты полных регрессий и увеличению степени лечебного патоморфоза опухолей, так и к улучшению показателей длительности безрецидивной выживаемости [43]. Больные раком прямой кишки в исследовании были представлены группой из 71 пациента, из которых 21 больной составляли исследуемую группу, а 50 – контрольную. Пациенты получали предоперационную дистанционную ЛТ суммарной очаговой дозой (СОД) 20 Гр на приема метронидазола в дозировке 5 г/м². По результатам исследования обнаружено увеличение частоты развития выраженного лечебного патоморфоза [43]. Полученный незначительный выигрыш от применения радиосенсибилизатора можно объяснить, во-первых, применением низких, суб-

токсических доз МЗ, недостаточных для достижения требуемой концентрации препарата в опухоли и развития радиосенсибилизирующего эффекта, во-вторых, применением неоптимальных схем ЛТ.

Помимо исследований радиосенсибилизирующей возможности нитроимидазолов, проведенных в СССР, в странах Западной Европы и США в 80-х годах также проведены масштабные испытания этих препаратов, в основном мизонидазола. Радиотерапевтической онкологической группой (RTOG) были проведены мультицентровые исследования эффективности применения мизонидазола с включением 2200 больных с опухолями различных локализаций. Только в 6 из 28 исследований получены умеренные положительные результаты. В 4 исследованиях получена тенденция к улучшению результатов лечения в сравнении с контрольными группами. Ухудшение результатов отмечено в 1 исследовании, а в 17 не обнаружено никаких преимуществ применения мизонидазола.

Следует также отметить, что основной проблемой в процессе испытаний была выраженная нейротоксичность препарата. Она проявлялась тошнотой, рвотой, периферическими сенсорными нарушениями, ототоксичностью, парезами и параличами. Отмечена дозозависимость нейротоксичности мизонидазола. У половины больных, получавших мизонидазол в дозе 1,5 г/м² и выше, отмечались признаки нейротоксичности. Учитывая весьма умеренный положительный эффект применения этого радиосенсибилизатора и выраженную токсичность лечения, этот метод радиомодификации, безусловно, не мог получить дальнейшего развития [38].

Подводя краткий итог вышесказанному, можно утверждать следующее:

- В эксперименте различные виды нитроимидазолов и МЗ в частности доказали свою эффективность в качестве радиомодификаторов в отношении действия на гипоксические клетки злокачественных опухолей.
- Выраженный радиосенсибилизирующий эффект наблюдается только при крупнофракционном облучении [35].
- Эффективность МЗ прямо пропорциональна размеру опухоли, концентрации препарата в опухоли и длительности экспозиции МЗ в опухоли [17].
- Минимальная концентрация МЗ, при которой проявляются его радиосенсибилизирующие свойства, составляет 150 мкг/г.
- При пероральном или комбинированных способах введения МЗ концентрация быстро достигает пикового значения и быстро снижается.
- Высокая концентрация МЗ в плазме крови сопровождается выраженной нейротоксичностью у 2/3 больных.
- Для купирования побочных симптомов применяются меры усиленного выведения МЗ из крови, что снижает концентрацию препарата в опухоли.

— При анализе отечественных исследований отмечена тенденция к усилению морфологических изменений и длительности торможения роста опухоли при сочетанном применении МЗ и ЛТ.

Опыт применения метронидазола в ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина»

Отделение онкопроктологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» обладает собственным клиническим опытом применения МЗ в качестве радиосенсибилизатора в лечении больных раком прямой кишки. Одной из первых работ по клиническому применению МЗ в качестве радиомодификатора для усиления эффективности радиотерапии в программе комбинированного лечения местно-распространенного неоперабельного рака прямой кишки является исследование, проведенное З.Ш. Херхеулидзе (1982).

В исследование было включено 16 больных. Дистанционная ЛТ проведена в СОД 44 Гр за полный курс. Две первые и две последние фракции ЛТ применялись на фоне введения МЗ в дозе 5 г/м². МЗ вводился перорально натощак за 3 ч до начала ЛТ. С целью уменьшения токсического эффекта МЗ проводилась инфузионная терапия. По результатам исследования сделаны следующие выводы: несмотря на то, что у всех больных наблюдались токсические проявления в форме тошноты и рвоты, доза МЗ была минимальна, регрессия опухоли отмечена у 62 % больных, а годичная и двухгодичная выживаемость составила 89,3 и 47,6 % соответственно [44].

В дальнейшем, основываясь на экспериментальных данных [24, 45–47] по усилению радиопоражаемости опухоли в условиях совместного применения локальной сверхвысокочастотной (СВЧ) гипертермии и МЗ, А.И. Кожушковым [48] проведено клиническое изучение совместного применения МЗ и локальной СВЧ-гипертермии при ЛТ местно-распространенного рака прямой кишки. Обоснованием совместного применения 2 радиомодификаторов послужили данные об усилении процессов радиочувствительности и гибели гипоксических клеток опухоли в процессе ЛТ [38]. Дистанционную ЛТ проводили крупными фракциями до СОД 32 Гр, МЗ вводили перорально в дозе 6 г/м² за 4 ч до сеанса гипертермии с последующей ЛТ. Для уменьшения токсичности лечение сопровождалось противорвотной, десенсибилизирующей и инфузионной терапией.

Анализ проведенного исследования выявил наличие специфической токсичности МЗ разной степени выраженности у всех больных. Регрессия опухоли отмечена у 75 % больных, что обеспечило возможность выполнения хирургического этапа лечения. Частота локорегионарных рецидивов составила 13 %, 2-летняя выживаемость 80 %. Результаты данного исследования показали эффективность совместного использования ЭАС метронидазола в качестве радиосенсибилизатора

на фоне локальной гипертермии в процессе радиотерапии. Однако выраженная нейротоксичность, быстрая элиминация МЗ из опухоли значительно лимитировали применение в клинике этого метода [48]. В то же время для реализации всех свойств МЗ (радиосенсибилизации, хемосенсибилизации и прямого цитологического эффекта) необходимо обеспечить концентрацию ЭАС в опухоли не менее 180 мг/м² в течение не менее 6–8 ч [19], поскольку именно в этот период после облучения происходит восстановление потенциально летальных и сублетальных повреждений опухолевых клеток [2].

В 2004 г. в отделении проктологии ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» создана программа комплексного лечения рака прямой кишки, включавшая неоадьювантную ЛТ РОД 5 Гр, СОД 25 Гр, трехкратную внутриполостную СВЧ-гипертермию, локальное внутривидеальное подведение ЭАС метронидазола в составе полимерной композиции на фоне приема капецитабина по 650 мг/м² 2 раза в сутки в течение 5 дней [49].

МЗ в данной полимерной композиции представлен в виде новой лечебной формы – гидрогеля на основе биополимера альгината натрия с вязкостью 2,63 Па • с с добавлением 2 % раствора ДМСО (универсальный транспортер), разработанной ООО «Текстильпрогресс» (патент РФ «Способ создания композиции для доставки лекарственного препарата в полости организма при заболеваниях») [50].

В состав полимерной композиции входит: 1) метронидазол сухое вещество в порошке, 2) альгинат натрия составляет основу композиции, тиксотропностью 75–98 % и является продуктом переработки бурых морских водорослей, представляющий собой блок-полимер D-маннуровой и L-гиалуриновой кислот. Альгинат натрия, связывая МЗ во взвешенном состоянии, из которого осуществляется постоянная диффузия его в опухоль.

Альгинат натрия является основой разрешенных для клинического применения ректальных свечей альгинатола, обладающих противовоспалительным, репаративным, обезболивающим и гемостатическим действием, а 2 % раствор ДМСО способствует проникновению МЗ в ткани опухоли (универсальный транспортер). Реологические свойства полимерной композиции обеспечивают адресное поступление непосредственно к очагу поражения высокой концентрации МЗ и пролонгированному поступлению в опухоль, которое происходит за счет набухания и биодеструкции полимерной основы, определяемой как свойствами самого полимера, так и первоначальной вязкостью системы.

По результатам испытаний, проведенных ФГБУ «ВНИИИМТ» Росздравнадзора, были сделаны выводы, что материал гидрогелевый с альгинатом натрия, ДМСО и МЗ в предлагаемых концентрациях (6; 8 и 10 г/м²) по токсикологическим и санитарно-химическим

показателям отвечает требованиям, предъявляемым к медицинским изделиям, контактирующим с неповрежденной кожей и слизистыми (Токсикологическое заключение № 70–08 от 02.04.2008)

Для изучения динамики накопления МЗ в опухоли и окружающих ее нормальные тканях в отделении проктологии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» было проведено исследование методом дифференциальной спектрофотометрии образцов кусочков тканей опухолей у 37 пациентов после различных видов хирургических вмешательств. Указанным методом определялась концентрация МЗ в образцах операционного материала опухолей прямой кишки, а также в биологических жидкостях – в крови и моче. Все исследования проводились на спектрофотометре Hewlett-Packard 8452A [49].

В день исследования пациентам назначалась очистительная клизма. Затем посредством шприца Жане и гибкого катетера, проведенного в прямую кишку проксимальнее опухоли, вводился гидрогель с МЗ общим объемом 200 мл. Непременным условием успешности процедуры является удовлетворительная континенция, обеспечивающая пребывание препарата в прямой кишке. Экспозиция препарата в прямой кишке составляла от 5 до 8 ч. Пациент все это время пребывал в горизонтальном положении, и для равномерного контакта радиосенсибилизирующей композиции с опухолью периодически переворачивался.

Учитывая кинетику препарата и данные о его высокой токсичности, непосредственно после введения полимерной композиции с МЗ в прямую кишку проводилась инфузионная терапия с форсированным диурезом, позволяющая основное количество МЗ, проникающего в кровь, выводить с мочой.

Спектрофотометрически было изучено 165 образцов тканей при концентрации МЗ в полимерной композиции из расчета 6 г/м², 8 г/м² и 10 г/м² на поверхность тела с различной экспозицией его в прямой кишке. Учитывая ангиогетерогенность опухоли и различную степень ее кровоснабжения, производили забор материала с 5 участков опухоли (3 с глубоких участков опухоли и 2 с поверхности) с последующей суммацией полученных результатов [51].

Как уже отмечалось выше, минимальная концентрация МЗ, необходимая для обеспечения радиосенсибилизирующих свойств опухоли, должна быть не ниже 150 мкг/г. При содержании МЗ 6; 8 и 10 г/м² поверхности тела в полимерной композиции во всех образцах тканей через 3 ч достигался радиосенсибилизирующий уровень МЗ в опухоли. Однако через 3 ч лишь при наличии в полимерной композиции МЗ из расчета 10 г/м² поверхности тела сохранялся радиосенсибилизирующий уровень МЗ в опухоли в течение 5 ч (рис. 3) [51].

Таким образом, проведенное исследование показало, что при содержании МЗ в полимерной композиции из расчета 10 г/м² поверхности тела радиосенсибилизирующий уровень его в опухоли сохраняется

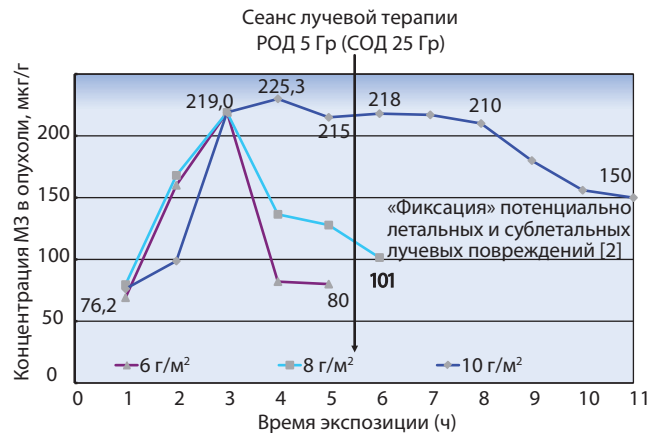


Рис. 3. Фармакодинамика МЗ в опухоли прямой кишки с учетом экспозиции и концентрации его в полимерной композиции

в течение 5 ч. Это позволяет реализовать основные механизмы действия МЗ (радиосенсибилизация, хемосенсибилизация, цитотоксичность и синергизм радиобиологических эффектов при совместном применении с СВЧ-гипертермией) и блокировать репарацию сублетальных и потенциально летальных лучевых повреждений опухолевых клеток [2].

Исходя из полученных данных, в ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» были созданы новые варианты комплексного лечения больных локализованным и местно-распространенным раком прямой кишки. В комплексном лечении больных локализованным раком прямой кишки наряду с 2 радиомодификаторами (локальной СВЧ-гипертермией и двукратным внутриректальным подведением к опухоли МЗ в дозе 10 г/м² в полимерной композиции) использован капецитабин в дозе 650 мг/м² 2 раза в сутки в течение недели с последующей операцией через 2–3 нед (патент РФ № 2 311 909 от 2005 г.) [52].

Данная программа комплексного лечения больных раком прямой кишки была начата в ФГБНУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина в 2004 г., и к настоящему времени мы располагаем анализом лечения 77 пациентов с медианой прослеженности 65,6 мес. Было показано, что данный вариант комплексного лечения обладает умеренным профилем токсичности и выраженным локальным контролем. Так, в исследуемой группе не отмечено локорегионарных рецидивов рака, а безрецидивная выживаемость составила на всю группу 81,7 %. Частота отдаленных метастазов диагностирована у 7 (9,1 %) пациентов, что диктует необходимость усиления цитотоксической лекарственной терапии (в последующих программах комплексного лечения доза капецитабина увеличена до 2 г/м²) [53].

При местно-распространенном неоперабельном раке прямой кишки создана новая программа комплексного лечения с разовой дозой ЛТ по 4 Гр до СОД 40 Гр с включением в программу лечения локальной СВЧ-гипертермии, внутриректального введения МЗ в составе полимерной композиции, ежедневного

приема капецитабина 850 мг/м² 2 раза в сутки и оксалиплатина 50 мг/м² раз в неделю (патент РФ 2414936 от 2011 г.) [54]. Продолжительность лечения составляла 22 дня. Данная программа лечения позволила увеличить число R0 резекций с 70 до 92,2 % за счет развития более чем у половины больных (у 57,7 %) лечебного патоморфоза III–IV степени и увеличить двухлетнюю безрецидивную выживаемость до 89,4 % [55].

Заключение

Таким образом, подводя итог представленных данных, можно констатировать, что применение МЗ в качестве радиомодификатора гипоксических клеток опухоли имеет хорошее теоретическое обоснование, а эффективность подтверждена рядом клинических исследований. Однако применение МЗ в сочетании с ЛТ не получило должного развития в клинической практике вследствие несовершенства технологии подведения препарата к опухоли и невозможности поддержания радиосенсибилизирующей концентрации в опухоли в течение длительного времени (5–6 ч) без превышения приемлемой токсичности.

Основой всех используемых схем лечения является пероральное применение препарата, когда МЗ попадает в ткань опухоли опосредованно через кровь, вызывая все характерные побочные эффекты. Меры, применяемые для детоксикации, приводят к снижению концентрации МЗ в крови и, в свою очередь, к снижению его концентрации в клетках опухоли и отсутствию значимого улучшения результатов лечения.

Другой подход к подведению радиосенсибилизирующей концентрации МЗ в опухоли (не менее 150 мкг/м²) был разработан в отделении проктоло-

гии ФГБНУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» совместно с ООО «Текстильпрогресс» на основе внедрения в клиническую практику методики адресной доставки (*per rectum*) МЗ из расчета 10 г/м² в полимерной композиции с использованием гелевой транспортно-депонирующей системы [52, 53].

Созданная методика адресной доставки МЗ к опухоли прямой кишки с использованием гелевой транспортно-депонирующей системы (далее – полимерной композиции) позволяет поддерживать концентрацию МЗ на радиосенсибилизирующем уровне в течение 5 ч за счет пролонгированного поступления его в опухоль благодаря реологическим свойствам полимерной композиции.

Это дает возможность реализовать в комплексных программах лечения такие радиобиологические эффекты, как радиосенсибилизация, хемосенсибилизация, а при совместном применении МЗ с локальной СВЧ-гипертермией обеспечить синергизм процессов радиосенсибилизации и гибели гипоксических опухолевых клеток.

Эффективность созданных вариантов комплексного лечения была показана в проспективных нерандомизированных исследованиях. Достигнут существенный прогресс в обеспечении локального контроля при лечении операбельных и местно-распространенных форм рака прямой кишки. Доступность созданных методик, умеренный профиль токсичности, теоретическая обоснованность использования нескольких радиомодификаторов и результаты проведенного исследования дают основание предполагать перспективность данных программ комплексного лечения для улучшения результатов лечения больных раком прямой кишки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Терапевтическая радиология. Руководство для врачей под ред. А.Ф. Цыба, Ю.С. Мардынского. М., 2010. 552 с. [Therapeutic radiology. Manual for doctors. Under the ed. A.F. Tsyba, Y.S. Mardynskiy. M., 2010. 552 p. (In Russ.)].
2. Ярмоненко С.П., А.А. Вайнсон. Радиобиология человека и животных. М., 2004. 549 с. [Yarmonenko S.P., A.A. Vaynson. Bioradiology of humans and animals. M., 2004. 549 p. (In Russ.)].
3. Adams G.E., Chemical radiosensitization of hypoxic cells. Br Med Bull 1973;29(1): 48–53.
4. Chapman J.D., Reuvers A.P., Borsa J. Nitroheterocyclic drugs as selective radiosensitizers of hypoxic mammalian cells. Cancer Chemother Rep 1974;58:559–70.
5. Chapman J.D., Franko A.J., Sharplin J. A marker for hypoxic cells in tumours with potential clinic applicability. Brit J Cancer 1981;43(4):546–50.
6. Delchier J.C., Malfetheriner P., Thieroff-Ekerdt R. Use of a combination formulation of bismuth, metronidazole and tetracycline with omeprazole as a rescue therapy for eradication of *Helicobacter pylori*. Aliment Pharmacol Ther 2014;40(2):171–7.
7. Падейская Е.Н. Препараты группы 5-нитроимидазола для лечения анаэробных и протозойных инфекций. Обзор литературы. Инфекции и антимикробная терапия 2000;2(4):110–6. [Padeyskaya E.N. Drugs of 5-nitroimidazole group for treatment of anaerobic and protozoal infections. Literature review. Infektsii i antimikrobnaya terapiya = Infections and antimicrobial therapy 2000;2(4):110–6 (In Russ.)].
8. Холодов Л.Е., Яковлев В.П. Клиническая фармакокинетика. М.: Медицина, 1985. С. 463. [Kholodov L.E., Yakovlev V.P. Clinical pharmacokinetics. M.: Meditsina, 1985. 463 pp.].
9. Falagas M.E., Walker A.M., Jick H. et al. Late incidence of cancer after metronidazole use: a matched metronidazole user/nonuser study. Clin Infect Dis 1998;26(2):384–8.
10. Anderson R.F., Patel K.B. Effect of lipophilicity of nitroimidazoles on radiosensitization of hypoxic bacterial cells in vitro. Br J Cancer 1979;39(6): 705–10.
11. Adams G.E., Asquith J.C., Watts E. Electron-affinic sensitizers for hypoxic cells irradiated in vitro and in vivo: current status. Advances in chemical radiosensitization. Vienna: IAEA, 1974. P. 1–12.
12. Эйдус Л.Х. Физико-химические основы радиобиологических процессов и защиты от излучений. М.: Атомиздат, 1979. С. 216.

- [Eydus L.H. Physicochemical basis of radiobiological processes and radiation protection. M.: Atomizdat, 1979. P. 216 (In Russ.).]
13. Harrison L.B., Chadha M., Hill R.J. et al. Impact of tumor hypoxia and anemia on radiation therapy outcomes. *Oncologist* 2002;7:492–508.
 14. Goldman P., Koch R.L., Chrystal E.J.T. Anaerobic metabolism of metronidazole and its consequences. In: *Radiation Sensitizers*. Ed. L. Brady. New York: Masson Publ, 1980. P. 225–231.
 15. Sutherland E.M. Selective chemotherapy of non-cycling cells in an in vitro tumor model. *Cancer Res* 1974;34:3501–4.
 16. Sridhar R., Koch C., Sutherland R. Cytotoxicity of two nitroimidazole radiosensitizers in an in vitro tumor model. *Int J Radiat Oncology Biol Phys* 1976;1(11–12):1149–57.
 17. Пелевина И.И., Воронина С.С., Каракулов Р.К. и др. Метронидазол, основные экспериментальные результаты, перспективы для клиники. *Медицинская радиология* 1984;29(2):10–20. [Pelevina I.I., Voronina S.S., Karakulov R.K. et al. Metronidazole, main experimental results, prospects for the clinic. *Meditinskaya radiologiya = Medical radiology* 1984;29(2):10–20 (In Russ.).]
 18. Astor M., Hall E.J., Martin J. et al. Radiosensitizing and cytotoxic properties of ortho-substituted 4- and 5-nitroimidazoles: role of NPSH reactivity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1982;8(3–4):409–13.
 19. Biaglow J.E., Nygard O.F., Greenstock C.L. Redox reactions of anoxic radiosensitizers. *Radiat Res* 1974;(59):158.
 20. Siemann D.W., Mulcahy R.T. Sensitization of cancer chemotherapeutic agents by nitroheterocyclics. *Biochem Pharmacol* 1986;35(1):111–5.
 21. Rockwell S. Combination therapy with misonidazole and mitomycin C: lack of chemosensitization of EMT6 tumor cells in vivo or in vitro. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1984;10(9):1631–4.
 22. Fowler J.F. Eighth annual Juan del Regato lecture. Chemical modifiers of radiosensitivity – theory and reality: a review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1985;11(4):665–74.
 23. Ярмоненко С.П. Моделирование в лучевой терапии. *Итоги науки и техники. Серия «Онкология»*. М., Медицина, 1987. С. 156–191. [Yarmonenko S.P. Simulation in radiation therapy. The results of science and technology. “Oncology” series. M.: Meditsina, 1987. Pp. 156–191 (In Russ.).]
 24. Morgan J.E., Bleehen N.M. Interactions between misonidazole and hyperthermia in EMT6 spheroids. *Br J Cancer* 1981;34(6):810–8.
 25. Urtasun R.C., Band P., Chapman J.D., Rabin H. Phase I study of high-dose metronidazole: A specific in vivo and in vitro radiosensitizers of hypoxic cells. *Radiology* 1975;117:129–33.
 26. Urtasun R.C., Sturmwind J., Rabin H. et al. Letter: “High-dose” metronidazole: a preliminary pharmacological study prior to its investigational use in clinical radiotherapy trials. *Brit J Radiol* 1974;47(2):297–9.
 27. Chapman J.D., Reuvers A.P., Borsa J. Nitroheterocyclic drugs as selective radiosensitizers of hypoxic mammalian cells. *Cancer Chemother Rep* 1974;58:559–70.
 28. Pettersen E.O. Toxic and radiosensitizing effect of the 2-nitroimidazole misonidazole (Ro-01-0582) on murine CFU in vivo. *Brit J Cancer Suppl* 1978;3:107–10.
 29. La-Russo N.F., Tomasz M., Muller M., Lipman R. Interaction of metronidazole with nucleic acids in vitro. *J Molec Pharmacol* 1977;13(5):872–82.
 30. Karim A.B. Prolonged metronidazole administration with protracted radiotherapy: a pilot study on response of advanced tumours. *Brit J Cancer Suppl* 1978;37(3):299–301.
 31. Саркисян Ю.Х., Антонова А.М., Воронина С.С. и др. Опыт использования трихопола в комплексной лучевой терапии рака прямой кишки. *Медицинская радиология* 1981;8:7–11. [Sarkisyan Y.K., Antonova A.M., Voronina S.S. et al. Experience with trichopolium application in complex radiation therapy for rectal cancer. *Meditinskaya radiologiya = Medical radiology* 1981;8:7–11 (In Russ.).]
 32. Абдельлатиф М.С. Комбинированное и лучевое лечение больных раком прямой кишки с применением интенсивного облучения и радиосенсибилизатора метронидазола. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Киев, 1982. [Abdellatif M.S. Combined and radiation therapy of patients with rectal cancer with application of intense radiation and radiosensitizer of metronidazole. Abstract. Thesis ... Ph. D. med. Kiev, 1982 (In Russ.).]
 33. Байсоголов Г.Д., Бердов Б.А., Конопляников А.Г., Голдобенко Г.В. Непосредственные результаты лучевого и комбинированного лечения больных со злокачественными опухолями с использованием метронидазола. *Медицинская радиология* 1983;2:7–12. [Baysogolov G.D., Berdov B.A., Konoplyanikov A.G., Goldobenko G.V. The immediate results of radiation and combined treatment of patients with malignant tumors with application of metronidazole. *Meditinskaya radiologiya = Medical radiology* 1983;2:7–12 (In Russ.).]
 34. Зельвин Б.М., Поляков П.Ю., Зимина Е.С. и др. Фармакокинетика и действие на организм метронидазола при использовании его в качестве радиосенсибилизатора. *Медицинская радиология* 1984;38–44. [Zelvin B.M., Polyakov P.Y., Zimina E.S. et al. Pharmacokinetics and effects of metronidazole on the body when used as a radiosensitizer. *Meditinskaya radiologiya = Medical radiology* 1984;38–44 (In Russ.).]
 35. Дарьялова С.Л., Поляков П.Ю., Киселева Е.С. и др. Метронидазол при лучевом лечении злокачественных новообразований. *Медицинская радиология* 1986;7:6–13. [Daryalova S.L., Polyakov P.Y., Kiseleva E.S. et al. Metronidazole in radiation therapy of malignant tumors. *Meditinskaya radiologiya = Medical radiology* 1986;7:6–13 (In Russ.).]
 36. Ludwig E., Csiba A., Magyar T. Age-associated pharmacokinetic changes of metronidazole. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1983;21(2):87–91.
 37. Workman P. Pharmacokinetics of hypoxic cell radiosensitizers: a review. *Cancer Clin Trials* 1980;3(3):237–51.
 38. Конопляников А.Г., Успенский В.А. Использование электронакцепторных соединений в схемах лучевого и лекарственного лечения больных со злокачественными новообразованиями. *Медицина и здравоохранение, серия «Онкология»*, вып. 2. М., 1988. 54 с. [Konoplyanikov A.G., Uspensky V.A. Use of electron acceptor compounds in the schemes of radiation and drug therapy of patients with malignant tumors. *Medicine and healthcare, “Oncology” series*, vol. 2. M., 1988. 54 p. (In Russ.).]
 39. Байсоголов Г.Д., Бердов Б.А., Конопляников А.Г. Непосредственные результаты лучевого и комбинированного лечения больных со злокачественными опухолями с использованием метронидазола. *Медицинская радиология* 1983;28(2):7–12. [Baysogolov G.D., Berdov B.A., Konoplyanikov A.G. The immediate results of radiation and combined therapies of patients with malignant tumors with application of metronidazole. *Meditinskaya radiologiya = Medical radiology* 1983;28(2):7–12 (In Russ.).]
 40. Urtasun R.C., Tanasichuk H., Fulton D. et al. High dose misonidazole with dexamethasone rescue: a possible approach to circumvent neurotoxicity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1982;8(3–4):365–9.
 41. Сальников Л.В., Мезенцев А.И., Барыбин А.С. Динамика содержания метронидазола в периферических опухолях после его аппликации в димексиде. *Радиомодификаторы в лучевой терапии опухолей*. Обнинск, 1985. С. 20–21. [Salnikov L.V., Mezencev A.I., Barybin A.S. Dynamics of metronidazole content in transplantable tumors after its application in dimexidum. *Radiomodifiers in radiation therapy of tumors*. Obninsk, 1985. Pp. 20–21 (In Russ.).]
 42. Moulder J.E., Lo P.S., Fischer J.J. Effect of combined metronidazole and DMSO on tumor control and skin tolerance in the rat. *Br J Cancer Suppl* 1978;(3):216–9.
 43. Кузин А.М., Цыб А.Ф., Ярмоненко С.П. Теоретические основы использования некоторых модифицирующих агентов при лучевой терапии злокачественных новообразований (программа «Модификатор»). *Радиобиология* 1981;21(5):744–51. [Kuzin A.M., Tsyb A.F., Yarmonenko S.P. Theoretical foundations of the use of certain modifying agents in radiation therapy

- of malignant tumors (the program "Modifier"). Radiobiologiya = Bioradiology 1981;21(5):744–51 (In Russ.).
44. Голдобенко Г.В., Кныш В.И., Кондратьева А.П. и др. Лучевое лечение местно-распространенного рака прямой кишки с использованием радиосенсибилизатора – метронидазола. В кн.: Радиомодификаторы в лучевой терапии опухолей. Обнинск, 1982. С. 27–28. [Goldobenko G.V., Knysh V.I., Kondratieva A.P. et al. Radiation therapy for locally advanced rectal cancer with the use of radiosensitizer – metronidazole. In the book: Radiomodifiers in radiation therapy of tumors. Obninsk, 1982. Pp. 27–28 (In Russ.).]
45. Overgaard J. Effect of misonidazole and hyperthermia on the radiosensitivity of a C3H mouse mammary carcinoma and its surrounding normal tissue. Br J Cancer 1980;41(1):10–21.
46. Honess D.J., Workman P., Morgan J.E., Bleehen N.M. Effects of local hyperthermia on the pharmacokinetics of misonidazole in the anaesthetized mouse. Br J Cancer 1980;41(4):529–40.
47. Stone H.B. Enhancement of local tumour control by misonidazole and hyperthermia. Br J Cancer 1978;3:178–83.
48. Кожушков А.И. Лучевое и комбинированное лечение местно-распространенных форм рака прямой кишки в условиях полирадиомодификации. М., 1988. С. 26–30. 48. [Kozhushkov A.I. Radiation and combined therapy of locally advanced rectal cancer in a poliradiomodification. М., 1988. Pp. 26–30 (In Russ.).]
49. Барсуков Ю.А. Комбинированное и комплексное лечение больных раком прямой кишки. М., 2011. 96 с. [Barsukov Yu.A. Combined and complex treatment of patients with rectal cancer. М., 2011. 96 p.(In Russ.).]
50. Патент РФ № 2352359 «Способ создания композиции для доставки лекарственного препарата в полости организма при заболеваниях». 2007 г. [Patent RF No. 2352359 "A method of creating a composition for drug delivery to the cavity of the body in diseases" 2007 (In Russ.).]
51. Барсуков Ю.А., Ткачев С.И., Николаев А.В. и др. Лечение рака прямой кишки с использованием нескольких радиомодификаторов при предоперационной лучевой терапии. Медицинская радиология и радиационная безопасность 2008;53(2):25–30. [Barsukov Y.A., Tkachev S.I., Nikolaev A.V. et al. Treatment of colorectal cancer using several radiomodifiers in preoperative radiotherapy. Meditsinskaya radiologiya i radiatsionnaya besopasnost' = Medical radiology and radiation safety 2008;53(2):25–30 (In Russ.).]
52. Патент РФ № 2311909 «Способ лечения рака прямой кишки». 2005 г. [Patent RF No. 2311909 "Treatment mode of colorectal cancer" 2005 (In Russ.).]
53. Барсуков Ю.А., Кузьмичев Ю.А., Ткачев С.И. и др. Комплексное лечение больных раком прямой кишки с использованием неoadъювантной термохимиолучевой терапии. Онкологическая колопроктология 2014;3:23–8. [Barsukov Y.A., Kuzmichev Y.A., Tkachev S.I. et al. Complex treatment of patients with rectal cancer with the use of neoadjuvant thermochemoradiological therapy. Onkologicheskaya koloproktologiya = Cancer Coloproctology 2014;3:23–8 (In Russ.).]
54. Патент РФ № 2414936 «Способ лечения рака прямой кишки». 2011 г. [Patent RF No. 2414936 "Treatment mode of colorectal cancer" 2011 (In Russ.).]
55. Гордеев С.С. Варианты неoadъювантной химиолучевой терапии больных местно-распространенным раком прямой кишки. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2013. 26 с. [Gordeev S.S. Options of neoadjuvant chemoradiotherapy of patients with locally advanced rectal cancer. Abstract. Thesis ... Ph. D. med. М., 2013. 26 p. (In Russ.).]