https://doi.org/10.24060/2076-3093-2019-9-1-66-74

Наночастицы: новый подход в диагностике и терапии глиальных опухолей головного мозга

И.Ф. Гареев[1], О.А. Бейлерли[1], В.Н. Павлов[1], Shiguang Zhao[2], Xin Chen[2], Zhixing Zheng[2], Chen Shen[2], Jinxian Sun[2]

[1] Башкирский государственный медицинский университет, Россия, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3
[2] Харбинский медицинский университет, Китай, 150081, Хэйлунцзян, Харбин, Наньган, Баоцзянь-роуд, 157
Контакты: Гареев Ильгиз Фанилевич, тел.: +7 9374952927, e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru

Гареев Ильгиз Фанилевич — *аспирант кафедры нейрохирургии и медицинской реабилитации с курсом ИДПО, e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru, orcid.org/0000-0002-4965-0835*

Бейлерли Озал Арзуман оглы — *аспирант кафедры урологии с курсом ИДПО, e-mail: obeylerli@mail.ru, orcid.org/0000-0002-6149-5460*

Павлов Валентин Николаевич — *д.м.н., член-корр. РАН, профессор, ректор, зав. кафедрой урологии с курсом ИДПО, orcid.org/0000-0003-2125-4897*

Shiguang Zhao — *профессор, зав. кафедрой нейрохирургии, e-mail: guangsz@hotmail.com*

Xin Chen — *ассистент кафедры нейрохирургии, врач-фармаколог, e-mail: chenxin_tracy@yeah.net*

Zhixing Zheng — *ассистент кафедры нейрохирургии, врач-нейрохирург, e-mail: zhengzhixing1986@163.com*

Chen Shen — *ассистент кафедры нейрохирургии, врач-нейрохирург, e-mail: alexshen1987@126.com*

Jingxian Sun — *аспирант кафедры нейрохирургии, e-mail: jingxiansun0725@gmail.com*

Резюме

Глиальные опухоли, в частности анапластические астроцитомы и мультиформная глиобластома (GBM), представляют собой агрессивные опухоли головного мозга, характеризующиеся плохим прогнозом и высокой частотой рецидивов. Современные стратегии лечения основаны на открытой хирургии, химиотерапии и лучевой терапии. Тем не менее ни один из этих методов лечения, отдельно или в комбинации, не считается эффективным в борьбе с данным заболеванием, в результате чего средняя продолжительность жизни после поставленного диагноза составляет менее 15 месяцев. Эффективность терапии в основном снижается из-за гематоэнцефалического барьера (ГЭБ), где проникновение лекарств в опухолевую массу затруднено. С развитием нанотехнологий эффективность используемых препаратов растет и доступ к глиальным опухолям головного мозга расширяется. Наночастицы являются предпочтительными в качестве переносчика лекарственных агентов и красителей благодаря их размеру, возможности модификации поверхности и универсальности для интеграции нескольких функциональных компонентов в одну систему. Таким образом, наночастицы могут быть ориентированы на терапевтическое и диагностическое применение при глиальных опухолях. Этот двойной подход помогает понять местоположение опухолевой ткани, биораспределение наночастиц, прогресс и эффективность лечения. Для усовершенствования подходов в терапии и диагностике можно применять различные стратегии для модификации поверхности наночастиц, включая поверхностные маркеры или так называемые лиганды, и использовать характеристики микроокружения опухоли с определенными мишенями, реагирующими на определенные стимулы. В данной работе мы рассматриваем различные стратегии совершенствования терапии и диагностики глиальных опухолей, описываются некоторые поверхностные маркеры, а также возможности внедрения наночастиц в повседневную клиническую практику.

Ключевые слова: **наночастицы, глиома, трансферрин, лиганды, паклитаксел, модификация, гематоэнцефалический барьер, головной мозг**

Для цитирования: **Гареев И.Ф., Бейлерли О.А., Павлов В.Н., Shiguang Zhao, Xin Chen, Zhixing Zheng, Chen Shen, Jinxian Sun. Наночастицы: новый подход в диагностике и терапии глиальных опухолей головного мозга. Креативная хирургия и онкология. 2019;9(1):66–74. https://doi.org/10.24060/2076-3093-2019-9-1-66-74**

Nanoparticles: a New Approach to the Diagnosis and Treatment of Cerebral Glial Tumours

Il'giz F. Gareev[1], Ozal A. Beylerli[1], Valentin N. Pavlov[1], Shiguang Zhao[2], Xin Chen[2], Zhixing Zheng[2], Chen Shen[2], Jinxian Sun[2]

[1] Bashkir State Medical University, 3 Lenin str., Ufa, 450008, Russian Federation
[2] Harbin Medical University, 157 Baojian Rd, Nangang Qu, Haerbin Shi, Heilongjiang Sheng, 150081, China
Contacts: Gareev Ilgiz Fanilevich, tel.: +7 9374952927, e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru

Summary

Glial tumors, and in particular anaplastic astrocytomas and glioblastoma multiforme (GBM), are aggressive brain tumors with poor prognosis and high recurrence rates. Current treatment strategies are based on open surgery, chemotherapy and radiation therapy. However, not a single one of these methods of treatment, alone or in combination, is effective in combating this disease, resulting in the average life expectancy following the diagnosis of under 15 months. Treatments are inefficient mainly due to the blood-brain barrier (BBB) that makes the delivery of drugs into the tumor mass difficult. With the development of nanotechnology the effectiveness of the drugs currently in use is on an increase and the reach to glial brain tumors is expanding. Nanoparticles are a preferred carrier of medicinal agents and dyes due to their size, availability of surface modification and the flexibility enabling the integration of several functional components into a single system. This makes it possible to direct the development of nanoparticles towards applications in the treatment and diagnosis of glial tumors. This dual approach helps to understand the location of the tumor tissue, bio-distribution of nanoparticles, and treatment progress and effectiveness. In order to improve the treatment and diagnosis approaches, various strategies can be applied to modify the surface of nanoparticles, including surface markers or so-called ligands and use the characteristics of the tumor microenvironment with specific targets which respond to specific stimuli. In this paper we review various strategies for the improvement of treatment and diagnosis of glial tumors, describe some surface markers and talk about opportunities for the introduction of nanoparticles into everyday clinical practice.

Keywords: **nanoparticles, glioma, transferrin, ligands, paclitaxel, modification, blood-brain barrier, brain**

For citation: **Gareev I.F., Beylerli O.A., Pavlov V.N., Shiguang Zhao, Xin Chen, Zhixing Zheng, Chen Shen, Jinxian Sun. Nanoparticles: a New Approach to the Diagnosis and Treatment of Cerebral Glial Tumours. Creative Surgery and Oncology. 2019;9(1):66–74. https://doi.org/10.24060/2076-3093-2019-9-1-66-74**

Gareev Ilgiz Fanilevich —
Post-graduate student of the Department of Neurosurgery and Medical Rehabilitation with the Course of Additional Professional Education, e-mail: ilgiz_gareev@mail.ru, orcid.org/0000-0002-4965-0835

Beylerli Ozal Arzuman —
Post-graduate student of the Department of Urology with the Course of Additional Professional Education, e-mail: obeylerli@mail.ru, тел.: +79875980003, orcid.org/0000-0002-6149-5460

Pavlov Valentin Nikolaevich —
Doctor of Medical Sciences, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Rector, Head of the Department of Urology with the Course of Additional Professional Education, orcid.org/0000-0003-2125-4897

Shiguang Zhao —
Professor, Head of the Department of Neurosurgery, e-mail: guangsz@hotmail.com

Xin Chen —
Assistant lecturer of the Department of Neurosurgery, Pharmacologist, e-mail: chenxin_tracy@yeah.net

Zhixing Zheng —
Assistant lecturer of the Department of Neurosurgery, Neurosurgeon, e-mail: zhengzhixing1986@163.com

Chen Shen —
Assistant lecturer of the Department of Neurosurgery, Neurosurgeon, e-mail: alexshen1987@126.com

Jingxian Sun —
Post-graduate student of the Department of Neurosurgery, e-mail: jingxiansun0725@gmail.com

Введение

Глиомы являются наиболее распространенными (~80 %) первичными опухолями центральной нервной системы (ЦНС) человека [1]. Согласно классификации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) об опухолях ЦНС, глиомы были классифицированы по четырем основным гистологическим группам (I–IV классы) в соответствии с их микроскопическими характеристиками (такими как цитологическая атипия, анаплазия, митотическая активность, микрососудистая пролиферация и некроз) и клиническими проявлениями. Эти опухоли были также разделены на астроцитомы (ВОЗ Grade I–IV степени), олигодендроглиомы (ВОЗ Grade II–III) и смешанные олигоастроцитомы (ВОЗ Grade II–III) [2]. Особенности глиальных опухолей, особенно анапластические астроцитомы (ВОЗ Grade III) и мультиформная глиобластома (ВОЗ Grade IV), имеют инвазивный характер роста в различных участках ЦНС и частые рецидивы, вызывая отчетливые неврологические симптомы с крайне плохим прогнозом.

На сегодняшний день методами терапии глиальных опухолей являются хирургия, лучевая терапия и химиотерапия. На первоначальном этапе часто проводят устранение повышенного внутричерепного давления вследствие компрессии опухолью ликворных путей. Эта процедура, как правило, безопасна, отчасти благодаря использованию высокотехнологичных инструментов визуализации, таких как интраоперационная магнитно-резонансная томография (МРТ) [3]. Однако при хирургическом вмешательстве всегда есть вероятность повреждения функционально значимых структур ЦНС. Кроме того, способность миграции опухолевых клеток от видимых границ опухоли в сочетании с отсутствием методов визуализации высокого разрешения, способных обнаруживать микроскопические клетки опухоли, приводит к снижению степени резекции и неизбежному рецидиву опухоли [4]. Следовательно, послеоперационная паллиативная лучевая терапия направлена на оставшиеся опухолевые клетки. При обычном облучении компьютерную томографию (КТ) и МРТ обычно используют для направления пучка излучения к ложу опухоли [5]. Несмотря на эти технологии трехмерного изображения высокого разрешения, радиационный некроз и рецидив опухоли были зарегистрированы в нескольких клинических исследованиях [6, 7]. Что касается химиотерапии, то химиопрепараты обладают рядом преимуществ перед хирургией и лучевой терапией, а именно простоту введения, малоинвазивность и независимую от возраста эффективность действия. Несмотря на эти преимущества, эффективность многих химиотерапевтических препаратов в их нативной форме ограничена их неспецифической токсичностью и плохой фармакокинетикой. Например, наблюдалось, что темозоломид (Tmz) вызывает гематологические побочные эффекты при лечении пациентов с GBM, тогда как бевацизумаб часто приводит к повышению артериального давления, нейтропении и тромбоэмболическим явлениям [8, 9].

Существуют несколько стратегий, которые могут обойти токсичность, связанную с химиотерапией, возможностью доставки лекарств в ЦНС и методами нацеливания на опухолевую ткань. Общим для предлагаемых решений по повышению эффективности и действию химиотерапии являются многофункциональные системы доставки лекарств на основе наночастиц. Наночастицы могут быть структурно разделены на две части: внешний слой (оболочка), способный функционировать с помощью множества небольших молекул, белков, ионов металлов и/или полимеров, и внутренний слой (ядро), который по существу является центральной частью наночастиц и состоит из различных материалов или простого резервуара (содержащего лекарства и контрастные вещества), как в случае липосом. Эти наноразмерные коллоидные лекарственные носители могут снизить неспецифическую токсичность лекарств, защитить терапевтические агенты от денатурации, способствовать растворению лекарств и проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [10]. Кроме того, эти новые системы доставки лекарств могут использоваться для одновременной транспортировки нескольких противоглиомных терапевтических агентов в ЦНС. Эта концепция вызвала интерес в научном сообществе и привела к исследованиям, направленным на разработку и воплощение этой инновационной стратегии на основе наночастиц для диагностики и лечения опухолей.

Наночастицы и гематоэнцефалический барьер

ГЭБ представляет собой физический барьер между кровью, ликвором и головным и спинным мозгом, который строго контролирует обмен молекулами / питательными веществами между кровью, ликвором и нервной тканью, играя тем самым важную роль в гомеостазе ЦНС, поддерживая здоровую микросреду для сложной нейронной деятельности. Однако в некоторых случаях этот барьер кажется почти непроницаемым для различных агентов, включая терапевтические агенты. ГЭБ позволяет транспортировать ограниченное количество малых гидрофильных молекул (молекулярная масса меньше 400 Da). Многие противоопухолевые препараты представляют собой крупные гидрофильные молекулы, что делает их неспособными проникать через ГЭБ. Потенциальная возможность пройти через ГЭБ — это конъюгация этих больших молекул с маленькими наноносителями (наночастицы), которые могут помочь распределить препарат в опухоли [11]. Существует несколько транспортных путей, по которым лекарственные средства в сочетании с наночастицами могут перемещаться через ГЭБ, такие как пассивная диффузия (параклеточная водная и трансклеточная липофильная диффузия) и рецептор-опосредованный эндоцитоз (рецептор-опосредованный трансцитоз, транспорт-опосредованный транспорт и адсорбционный опосредованный трансцитоз). Пассивная диффузия может быть облегчена путем увеличения концентрации лекарственного средства в плазме, что приводит к увеличению осмотического градиента у ГЭБ и, таким образом, к увеличению количества молекул лекарственного средства, поступающих в ЦНС. Рецептор-опосредованный эндоцитоз является общей стратегией проникновения наночастиц в ЦНС, которая основана на взаимодействии поверхностного лиганда наночастиц со специфическими рецепторами клеток ГЭБ. Рецептор-опосредованный трансцитоз состоит из нескольких каскадных процессов, включающих взаимодействие сконструированных наночастиц с целевым рецептором, образование эндоцитотических пузырьков, трансцитоз через эндотелиальные клетки ГЭБ и последующий экзоцитоз наночастиц [12]. Экзоцитоз зависит от степени родства между рецептором клетки и лигандом на поверхности наночастиц, поэтому в эндотелиальных клетках содержится больше наночастиц, чем в паренхиме мозга [13].

Белок трансферрин (TfR) активно исследовался в качестве доставки терапевтических средств в головной мозг, который мог взаимодействовать с рецепторами TfR на поверхности эндотелиоцитов и проникать через ГЭБ [14] (рис. 1).

Используя высокую экспрессию TfR на просветной стороне эндотелиальных клеток сосудов головного мозга, также тщательно исследовали транспортировку наночастиц через трансферрин-опосредованный трансцитоз через ГЭБ. В своей работе Dixit и др. модифицировали пептидным ПЕГилированным покрытием TfR наночастицы золота, которые в последующем были введены в/в *in vivo*, и в результате смогли показать, что модифицированные наночастицы демонстрируют значительно более высокое накопление в глиальной опухоли головного мозга в первые 6 часов [13]. Porru и др. также продемонстрировали лучшую противоопухолевую эффективность с липосомами, конъюгированными с TfR, как в гетеротопической, так и в ортотропных опухолях головного мозга *in vivo* [15].

При доставке противоопухолевых препаратов в опухолевую ткань эффект «повышенной проницаемости и удержания» (EPR), впервые описанный Matsumura и Maeda в 1986 году, является очень важным фактором [16]. Большинство солидных опухолей имеют кровеносные сосуды с дефектным строением и обычно вырабатывают большое количество разнообразных факторов проницаемости сосудов, и поэтому сосуды опухоли проявляют повышенную проницаемость. Благодаря EPR молекулы размером более 40 kDa избирательно проникают из опухолевых сосудов и накапливаются в опухолевой ткани. Напротив, эта управляемая явлением EPR доставка лекарств не происходит в нормальных тканях.

Активное нацеливание

Для повышения селективности высвобождения лекарственного средства на выбранных участках действия и достижения повышенной терапевтической эффективности необходим подход активного нацеливания. Эти стратегии состоят во включении аффинных молекул, экспрессируемых на поверхности наночастиц, принимая во внимание специфические характеристики аномальной ткани, например дифференциальную экспрессию рецепторов или антигенов в опухолевых клетках. Они включают в себя широкий спектр пептидов, антител или фрагментов антител, аптамеров и других малых молекул [17]. Глиальная опухоль проявляет свою химиорезистентность несколькими сигнальными механизмами, поэтому разработка наночастиц, активно нацеленных на поверхностные клеточные маркеры, сигнальные пути и микроокружение самой опухоли, представляет собой важную и сложную задачу. Эти подходы осуществляются путем соединения специфических лигандов со структурой наночастиц, что позволяет избирательно распознавать различные рецепторы, сверхэкспрессируемые на поверхности опухолевых клеток. Функционализация поверхности наночастиц повышает терапевтическую эффективность цитотоксических лекарств и возможность преодолеть лекарственную устойчивость или химиорезистентность глиом [18].

Пассивное нацеливание

Пассивное нацеливание является одним из наиболее широко используемых подходов доставки наночастиц в глиальную опухоль головного мозга для терапевтических и диагностических целей. Как известно, проницаемость ГЭБ при различных патологических процессах, включая опухоли, может быть в некоторой степени нарушена, и, следовательно, это дает возможность для пассивного транспорта наночастиц с определенными свойствами. Подобно требованиям, предъявляемым к малым молекулам для проникновения через ГЭБ, липофильность является одним из наиболее важных факторов, влияющих на способность наночастиц проникать через ГЭБ посредством пассивного транспорта. Наночастицы размером 100–400 нм не показали хороших результатов разницы в преодолении ГЭБ. Однако эффект EPR не возникает с обычными химиотерапевтическими

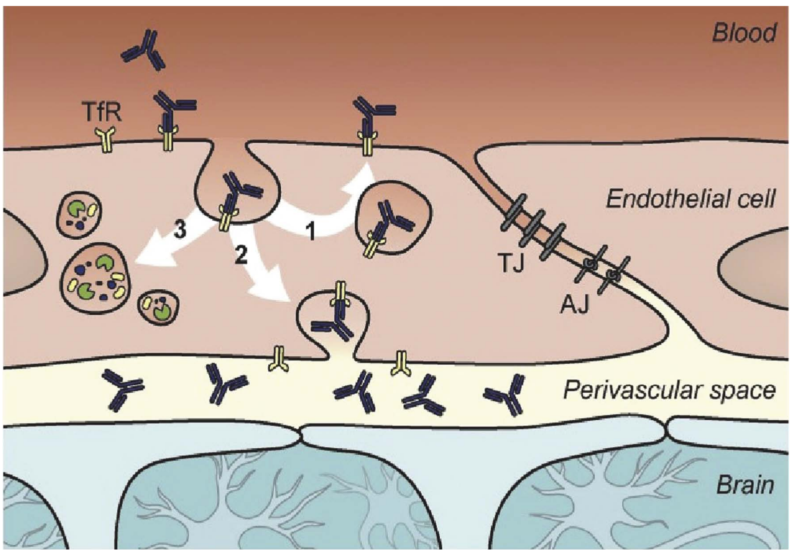

Рисунок 1. Схема, иллюстрирующая три возможных пути эндоцитарной сортировки, где биспецифические антитела anti-TfR взаимодействуют с рецепторами TfR на поверхности эндотелиальных клеток ГЭБ. При связывании рецептора: (1) биспецифические антитела anti-TfR могут быть возвращены в сторону просвета (кровь), (2) трансцитоз в паренхиму (мозг) или (3) отсортированы в лизосомы для деградации. Адаптировано из работы Bien-Ly и др. [14]

Figure 1. Schematic illustrating three potential endocytic sorting routes that anti-TfR bispecifics may take within endothelial cells at the BBB. Upon receptor binding: (1) anti-TfR bispecifics may be recycled to the luminal side (blood), (2) transcytosed to the parenchyma (brain), or (3) sorted to the lysosome for degradation. Adapted from Bien-Ly et al. [14]

молекулами из-за отсутствия специфичности между нормальными и опухолевыми тканями. Однако способность к распространению лекарств является важным параметром, который препятствует стратегии пассивного нацеливания из-за сложности контроля высвобождения лекарств. Следовательно, для достижения эффективного EPR наночастицы должны быть меньше 100 нм и иметь биосовместимую поверхность (нейтральный заряд и гидрофильные свойства), чтобы избежать удаления с помощью ретикулоэндотелиальной системы (РЭС) [19, 20].

Наночастицы в терапии глиальных опухолей

Нанотехнология предоставляет бесконечные возможности в области лечения онкологических заболеваний с использованием таргетных систем противоопухолевой доставки лекарств. Для этого необходимо надлежащим образом изучить наночастицы и спроектировать их для достижения наибольшего терапевтического и/или диагностического эффекта с уменьшенными побочными эффектами, особенно для химиопрепаратов. Наночастицы являются гибкими и универсальными по структуре, которая обеспечивает небольшой размер, соответствующую форму и функционализацию поверхности для достижения мишени. Было показано, что наночастицы улучшают фармакокинетику доступных лекарственных средств путем уменьшения их биораспределения в нецелевых компартментах, доставки адекватного количества лекарственного средства в нужное место, преодоления проблем растворимости и стабильности. В зависимости от природы и состава их можно классифицировать как органические и неорганические наночастицы [21]. Органические наночастицы описываются как состоящие из органических соединений, в том числе липидов, поверхностно-активных веществ или полимеров со статусом GRAS (обычно считающимся безопасным), которые обеспечивают простой способ инкапсуляции молекул. Липосомы, полимерные наночастицы, липидные наночастицы, мицеллы / полимерные мицеллы, наночастицы на основе белка являются примерами органических наночастиц. С другой стороны, неорганические наночастицы содержат плотное ядро с различными физико-химическими свойствами, которые можно отнести к их неорганическим компонентам, таким как магнитные оксиды металлов или полупроводниковые материалы. В исследованиях были описаны и использованы различные типы неорганических наночастиц, включая наночастицы оксида железа, наночастицы мезопористого диоксида кремния, наночастицы золота и квантовые точки. Основными преимуществами неорганических наночастиц являются их прочность, устойчивость к ферментативному разложению и наличие особенных свойств, таких как оптические, термические, магнитные и электрические, которые можно использовать для визуализации наночастиц и в терапии. Учитывая их природный состав, неорганические наночастицы могут быть синтезированы и модифицированы с помощью поверхностной функционализации путем включения лигандов или полимеров для улучшения их биологической функции [22]. Использование биосовместимых покрытий снижает токсичность, связанную с присутствием тяжелого металла. Неорганические наночастицы также широко исследовались в применении для диагностики, поскольку у них есть отличные способности реагировать на внешние раздражители и изменения в организме [22, 23]. Наночастицы представляют собой интересную систему доставки лекарств, имеющую высокий потенциал для улучшения результатов лечения пациентов с глиомами. Однако их перевод от доказательной концепции в доклинических исследованиях до демонстрации терапевтической ценности в клинической практике остается сложным и дорогостоящим. Процедура масштабирования, модификации поверхности, биологическая устойчивость и токсичность, распознавание и количественная оценка наночастиц в организме человека — вот некоторые моменты, которые затрудняют перевод в клиническую практику. Было проведено несколько видов исследований *in vitro* и *in vivo*, посвященных возможной терапии глиальных опухолей при помощи наночастиц, о которых и пойдет речь ниже.

Паклитаксел (Ptx) может ингибировать деление клеток путем стимулирования сборки микротрубочек из димеров тубулина и стабилизации микротрубочек (важен для клеточных функций на этапе митоза и интерфазы клеточного цикла), поэтому он рассматривается в качестве химиотерапии [24]. Тем не менее он не может проникать через ГЭБ из-за высоких гидрофобных свойств данного препарата. Чтобы преодолеть ГЭБ, Hu и др. разместили Ptx в липосомы с пептидом tLyp-1 в качестве лиганда и оценивали возможную терапевтическую и диагностическую роль [25]. Результаты показали повышенное клеточное поглощение данных наночастиц с Ptx как эндотелиальными клетками пупочной вены человека (HUVECs), так и клетками глиом C6, демонстрируя цитотоксичность и ингибирование роста клеток со стороны Ptx. Селективное накопление наночастиц в участках опухоли было подтверждено визуализацией *in vivo*. Самая длинная медиана выживаемости была достигнута у мышей с глиомой C6, получавших данные наночастицы с Ptx. Полученные здесь данные убедительно указывают на то, что функционализированные пептидом tLyp-1 липосомы могут значительно улучшить эффективность терапии глиальных опухолей Ptx.

Система доставки наночастиц с двойным нацеливанием была разработана Xin и др. путем конъюгирования Angiopep с наночастицами из полиэтиленгликоль-поли-e-капролактона (ANG- PEG-PCL) для преодоления ГЭБ ЦНС и ГЭБ сосудов самой опухоли [26]. ANG- PEG-PCL может нацеливаться на белок, связанный с рецептором липопротеинов низкой плотности, который сверхэкспрессируется на поверхности эндотелиоцитов ГЭБ и клеток глиом. Антипролиферативные свойства и индуцирование апоптоза с помощью наночастиц ANG- PEG-PCL, модифицированных Ptx, продемонстрировали на клеточной линии глиомы U87 MG. Коэффициенты транспорта через экспериментальную модель ГЭБ *in vitro* были значительно увеличены, и жизнеспособность клеток глиомы U87 MG после преодоления ГЭБ, очевидно, была снижена с помощью

ANG- PEG-PCL модифицированных Ptx. С помощью флуоресцентного изображения в реальном времени наблюдалось усиленное накопление данных наночастиц в ложе глиомы *in vivo*. Таким образом, ANG-PEG-PCL наночастицы были перспективными в системе доставки лекарств с двойным нацеливанием для возможной терапии глиомы головного мозга.

Опухолевые клетки в целом (включая глиомы) демонстрируют ускоренный метаболизм, который вызывает накопление излишнего количества молочной кислоты, генерируя повышенную кислотность опухолевого микроокружения [27]. Cheng и др. приняли во внимание этот характерный фенотип глиом и использовали чувствительные к низкому pH наночастицы из золота с ПЕГилированным фосфолипидным покрытием в комбинации с доксорубицином (Dox) через кислотолабильный гидразоновый линкер [28]. Использование чувствительности Dox к низкому pH обеспечивало стабильность и системную ее транспортировку, а именно быстрое высвобождение Dox в местах опухоли, где pH является низким. В микроокружении опухоли имеется воспалительный процесс, вызванный секрецией цитокинов/хемокинов. Особая роль макрофагов в прогрессировании опухоли была продемонстрирована в последние годы, и, основываясь на том, что макрофаги обладают свойством хоминга, позволяющим им мигрировать в опухолевые участки через ГЭБ в ответ на синтез цитокинов/хемокинов в пораженных тканях, Pang и др. использовали макрофаги в качестве «троянских коней» для переноса наночастиц с Dox для преодоления ГЭБ и высвобождения лекарства в местах опухоли головного мозга [29]. Dox был заключен в наночастицы, чтобы избежать повреждения клеток. Наночастицы с Dox инкубировали с макрофаг-подобными клетками RAW 264 для получения комплекса макрофаг-наночастицы. Высвобождение наночастиц из комплекса макрофаг-наночастицы было очень медленным в среде DMEM и 10 % FBS и значительно ускорялось, когда добавляли в микросреду интерферон-γ (IFN-γ) и липосахариды, имитирующие микроокружение опухоли. Возможность проникать в опухолевые клетки комплекса макрофаг-наночастицы была подтверждена в исследованиях *in vitro*. Эффективность нацеливания наночастиц на опухоль также значительно повышалась в комплексе макрофаг-наночастицы у лабораторных мышей с глиомой головного мозга. Данные результаты показали большой потенциал макрофагов в качестве активного бионосителя для доставки наночастиц с противоопухолевыми препаратами в глиальные опухоли. Это новое доказательство концепции предлагает уникальные идеи клеточной терапии в сочетании с модифицированными наночастицами.

В дополнение, полиамидоаминовый (PAMAM) дендример использовали в качестве носителя для доставки антисмыслового олигонуклеотида miR-21 (as-miR-21) и 5-фторурацил (5-FU) в клеточной линии GBM человека U251. As-miR-21 синергировала цитотоксичность 5-FU, увеличивая апоптоз клеток U251. Более того, миграционная способность опухолевых клеток U251 была снижена. Таким образом, представляется, что совместное использование лекарственных средств и as-miR-21 может быть эффективным методом в лечении GBM посредством снижения экспрессии про-онкогенной miR-21, избыточно экспрессированной в клетках GBM [30].

Визуализация распределения наночастиц

Визуализация опухолей головного мозга является важной задачей начиная от ранних стадий исследований, хирургического планирования и на протяжении всего хирургического процесса до наблюдения в постоперационном периоде. В настоящее время во время операции применяется все больше вспомогательных методов, таких как интраоперационная МРТ и хирургия с флуоресцентной визуализацией, для повышения безопасности этих операций и увеличения области резекции опухолевой ткани. Многие из этих методов часто бывают недостаточными из-за низкой чувствительности или плохого разрешения операции. Применение контрастных веществ также имеет свои недостатки, так как это требует многократных инъекций контрастного вещества, что может привести к дополнительной травме и увеличению метаболической нагрузки пациента. Кроме того, наличие гематоэнцефалического барьера серьезно ограничивает доставку большинства терапевтических агентов, таких как Dox, в ткани головного мозга [31]. Химиотерапевтические препараты, которые способны транспортироваться через ГЭБ, обычно неспособны эффективно находить опухоль для достижения нужных концентраций, необходимых для уничтожения опухолевых клеток без повреждения нормальной мозговой ткани. С точки зрения традиционной визуализации анатомических структур наночастицы могут исследоваться в качестве потенциальных контрастных агентов для улучшения получения изображений с помощью современных методов диагностики, таких как МРТ. Одним из специфических классов наночастиц, который вызвал большой интерес в этом отношении, являются суперпарамагнитные наночастицы оксида железа (SPIO), которые демонстрируют превосходную биосовместимость и способность к визуализации [32]. Поверхности SPIO наночастиц могут быть легко модифицированы с помощью поверхностно-активных веществ и биоактивных лигандов, что дополнительно повышает их эффективность путем: 1) более продолжительного присутствия в кровотоке; 2) ориентировки наночастиц на определенные целевые участки, например, ткань опухоли и 3) возможности модифицировать наночастицы широким спектром диагностических и терапевтических средств для терапии опухолей. Хотя МРТ имеет превосходное пространственное разрешение, оно ограничено низкой чувствительностью. Напротив, флуоресцентная визуализация ближней инфракрасной области (NIRF), которая имеет высокую чувствительность, показывает относительно низкое разрешение. Индоцианиновый зеленый (ICG) представляет собой амфифильный трикарбоцианиновый краситель, проявляющий максимальное поглощение и излучение в области NIR около 780 и 810 нм соответственно [33]. Это единственный органический краситель NIR, одобренный Управлением по санитарному надзору

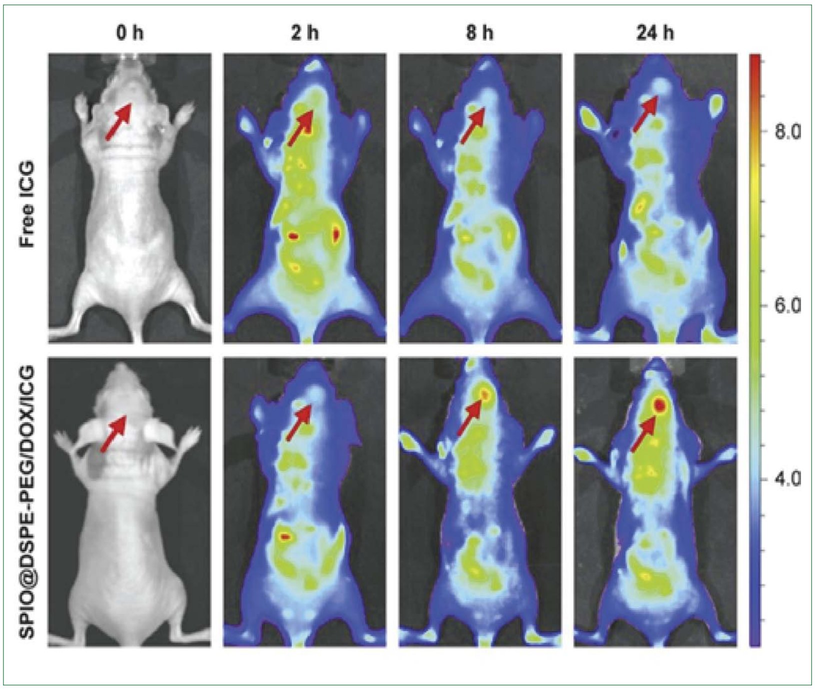

Рисунок 2. Флуоресцентная визуализация in vivo. Флуоресцентная визуализация глиомы у лабораторных мышей в разное время после инъекции в хвостовую вену свободного ICG и наночастиц SPIO@DSPE-PEG/DOX/ICG; стрелка указывает направление глиомы. Адаптировано из работ Shen и др. [37]
Figure 2. In vivo fluorescence imaging efficacy. Fluorescence images of glioma-bearing nude mice at different times after tail vein injection of free ICG and SPIO@DSPE-PEG/DOX/ICG NPs; arrow indicates direction of the glioma. Adapted from Shen et al. [37]

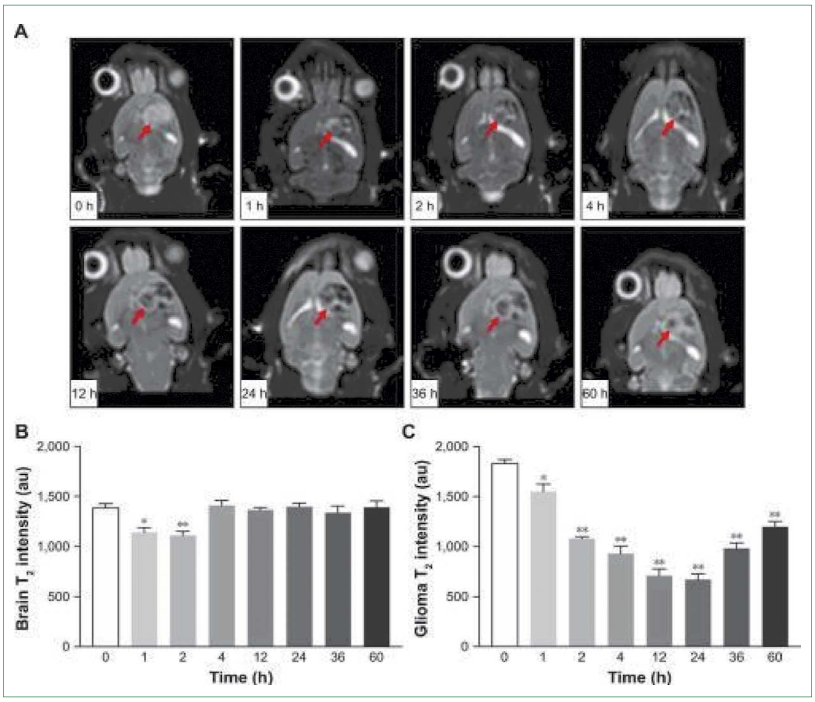

Рисунок 3. МРТ визуализация in vivo. МР-визуализация Т2-взвешенных изображений глиомы у крыс Wistar в разное время после инъекции в хвостовую вену наночастиц SPIO@DSPE-PEG/Dox/ICG; стрелка указывает направление глиомы. Адаптировано из работ Shen и др. [37]
Figure 3. In vivo MRI efficacy. T2-weighted MR images of glioma-bearing Wistar rats at different times after tail vein injection of SPIO@DSPE-PEG/Dox/ICG NPs (A); arrow indicates direction of the glioma. Adapted from Shen et al. [37]

за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (USFDA) для клинических применений, он представляет собой средство с одной из самых низких токсичностей для человека. В настоящее время ICG широко используется в так называемой индоцианиновой ангиографии сосудов сетчатки в офтальмологической практике и оценке функции печени [34, 35]. Он также широко используется в нейрохирургической практике при исследованиях цереброваскулярных заболеваний, таких как сложные аневризмы и артериовенозные мальформации (АВМ) [36]. Shen и др. в своей работе продемонстрировали использование меченных индоцианином зеленого суперпарамагнитных наночастиц оксида железа с ПЕГилированным фосфолипидным покрытием в комбинации с Dox (SPIO@DSPE-PEG/Dox/ICG) для химиотерапии и визуализации методами магнитно-резонансной и флуоресцентной томографии глиальных опухолей [37]. В данном исследовании *in vivo* ICG-флуоресцентная визуализация в ближней инфракрасной области спектра, как и МРТ, были использованы для исследования нацеливания на глиальную опухоль и эффективности визуализации SPIO@DSPE-PEG/Dox/ICG наночастиц. Как показано на рисунке 2, сигналы свободной ICG первоначально наблюдались по всему телу через 2 часа после в/в инъекции, что наиболее вероятно, представляя сигналы данного красителя, накопленного в коже, подкожной клетчатке и внутренних органах, таких как печень и кишечный тракт.

Затем сигналы, зависящие от времени, показали постепенное уменьшение интенсивности в области опухоли, что указывает на то, что свободные молекулы ICG не могут нацеливаться и накапливаться в тканях глиальной опухоли. Напротив, сигналы комбинированных наночастиц с ICG были в основном локализованы в опухоли через 24 часа, в соответствии с результатами, представленными на рисунке 3.

Эти результаты, представленные данными авторами, свидетельствуют о том, что большое количество SPIO@DSPE-PEG/Dox/ICG наночастиц эффективно проникало через ГЭБ и специфически накапливалось в опухолевой ткани, но не в других областях головного мозга. Более того, введение ПЕГилированного фосфолипидного слоя на поверхность SPIO наночастиц позволяет избежать распознавания клетками иммунной системы, например макрофагами, и, таким образом, удаления с помощью РЭС печени и селезенки. Данная способность модифицированных наночастиц является результатом их повышенной гидратации и способствует более продолжительному времени присутствия в организме.

Клинические испытания

Исследования, выполненные на экспериментальных моделях с использованием лабораторных животных, подтверждают безопасность и эффективность целевых наночастиц. Существует множество противоопухолевых химических агентов, включая бевацизумаб, темозоломид, доксорубицин, паклитаксел и иринотекан, которые уже находятся в клиническом применении. Некоторые одобренные USFDA химиотерапевтические нанопрепараты в настоящее время имеются в продаже [38]. Тем не менее постоянное беспокойство по поводу использования этих лекарств в их естественной форме заключается в их вероятной кумулятивной токсичности для здоровых клеток.

Dox является химиотерапевтическим препаратом, одобренным для лечения различных типов рака и одним из наиболее ценных средств против злокачественных глиом *in vitro*, несмотря на то что Dox обладает пониженной эффективностью *in vivo* из-за его низкого проникновения через ГЭБ. Во II фазе клинических исследований в 2001 году использовался инкапсулированный в липосомах Dox, продемонстрировавший стабилизацию заболевания (54 %) и переносимость в небольшой когорте из 15 пациентов с рецидивирующей GBM, где медиана общей выживаемости после лечения составила 40 недель [39]. В другом клиническом исследовании, также во II фазе, использовались ПЕГилированные липосомы с Dox (PEG-Dox) у пациентов с рецидивирующими глиомами high-grade III–1V, где медиана общей выживаемости после лечения составила 74 недели [40]. В более новом исследовании использовался Tmz (другой общепринятый химиотерапевтический препарат) отдельно или в комбинации с PEG-Dox липосомами, который хорошо переносится, но, по-видимому, не добавляет значительного клинического преимущества в лечении недавно диагностированной GBM [41].

SGT-53 представляет собой наноноситель, состоящий из катионизированных липосом, имеющих в своем составе опухолевый супрессор p53 и демонстрирующий нацеленность на TfR. Впервые на людях были проведены исследования с солидными опухолями, не связанными с ЦНС, и сообщалось о восстановлении функции p53 с отсутствием побочных эффектов [42]. Имеются данные о том, что идет набор пациентов для II фазы клинического испытания с SGT-53 в сочетании с Tmz для пациентов с рецидивирующей GBM. Предполагаемыми результатами являются накопление SGT-53 в опухолевой ткани с активацией апоптоза опухолевых клеток, где выживаемость без прогрессирования составит 6 месяцев [42].

В настоящее время эффективность активно нацеленных наночастиц при глиальных опухолях не была оценена в клинических исследованиях. Например, современные липосомные наночастицы были разработаны для пассивного нацеливания на опухоль и основаны главным образом на эффекте EPR. Как обсуждалось выше, доступ к ЦНС сильно ограничен ГЭБ, и в результате проникновение системно введенных наночастиц через пассивную диффузию будет довольно низким. Более того, даже если эти наночастицы смогут уверенно проникать через эндотелиоциты ГЭБ, эффект EPR вряд ли будет из-за присутствия плотного скопления астроцитов как второго барьера и высокого осмотического давления интерстициальной жидкости, что еще больше ограничивает диффузию в ЦНС.

Заключение

Доступная на данный момент информация из исследований указывает на то, что наночастицы могут быть очень полезны для доставки терапевтических средств и красителей в глиальные клетки, что открывает новые возможности в терапии и диагностике глиальных опухолей. Наночастицы, описанные в данной работе, представляют собой стабильные, биосовместимые, обычно биоразлагаемые соединения с низкой токсичностью, которые могут быть легко модифицированы на поверхности для возможности целевой доставки химиопрепаратов или нуклеиновых кислот, как as-miR-21. Важно отметить, что для потенциального применения в терапии и диагностике глиом наночастица должна быть в состоянии доставить свой «груз» непосредственно в паренхиму головного мозга, что означает, что она должна с легкостью преодолевать ГЭБ. По этой причине разработка по модификации наночастиц, которая позволит эффективно преодолевать ГЭБ, является ключевым моментом в подходе к терапии и диагностике глиом. Это подразумевает, что наночастицы должны быть проверены на эффективность в доклинических исследованиях на моделях животных с ксенотрансплантатом глиальной опухоли головного мозга, где присутствуют все реальные компоненты ГЭБ. Другим же моментом, конечно, является то, что сами наночастицы и химиопрепараты не должны вызывать токсические эффекты по отношению к здоровым клеткам.

Подводя итог, можно сказать, что в последние годы были достигнуты определенные успехи в использовании наночастиц для доставки терапевтических агентов и красителей для визуализации глиальных опухолей, и, хотя предстоит еще много работы, было бы разумно предположить, что в скором времени нанотехнологии внесут свой вклад в повседневную клиническую практику.

Информация о конфликте интересов.
Конфликт интересов отсутствует.

Информация о спонсорстве.
Данная работа была выполнена при финансовой поддержке гранта Республики Башкортостан молодым ученым от 5 февраля 2019 № УГ-28.

Список литературы / References

1 Howell A.E., Zheng J., Haycock P.C., McAleenan A., Relton C., Martin R.M., et al. Use of mendelian randomization for identifying risk factors for brain tumors. Front Genet. 2018;9:525. DOI: 10.3389/fgene.2018.00525

2 Merve A., Millner T.O., Marino S. Integrated phenotype-genotype approach in diagnosis and classification of common CNS tumours. Histopathology. 2019, 01 March. DOI: 10.1111/his.13849

3 Wu D.F., He W., Lin S., Han B., Zee C.S. Using real-time fusion imaging constructed from contrast-enhanced ultrasonography and magnetic resonance imaging for high-grade glioma in neurosurgery. World Neurosurg. 2019, Jan 21. PII: S1878-8750(19)30098-1. DOI: 10.1016/j.wneu.2018.12.215

4 Bagley S.J., Schwab R.D., Nelson E., Viaene A.N., Binder Z.A., Lustig R.A., et al. Histopathologic quantification of viable tumor versus treatment effect in surgically resected recurrent glioblastoma. J Neurooncol. 2019;141(2):421–9. DOI: 10.1007/s11060-018-03050-6

5 Berberat J., McNamara J., Remonda L., Bodis S., Rogers S. Diffusion tensor imaging for target volume definition in glioblastoma multiforme. Strahlenther Onkol. 2014;190(10):939–43. DOI: 10.1007/s00066-014-0676-3

6 Metaweh N.A.K., Azab A.O., El Basmy A.A.H., Mashhour K.N., El Mahdy W.M. Contrast-enhanced perfusion MR imaging to differentiate between recurrent/residual brain neoplasms and radiation necrosis. Asian Pac J Cancer Prev. 2018;19(4):941–8. DOI: 10.22034/APJCP.2018.19.4.941

7 Martens K., Meyners T., Rades D., Tronnier V., Bonsanto M.M., Petersen D., et al. The prognostic value of tumor necrosis in patients undergoing stereotactic radiosurgery of brain metastases. Radiat Oncol. 2013;8:162. DOI: 10.1186/1748-717X-8-162

8 Newton S.L., Kalamaha K., Fernandes H.D. Temozolomide-induced aplastic anemia treated with eltrombopag and granulocyte colony stimulating factor: a report of a rare complication. Cureus. 2018;10(9):e3329. DOI: 10.7759/cureus.3329

9 Ladha H., Pawar T., Gilbert M.R., Mandel J., O-Brien B., Conrad C., et al. Wound healing complications in brain tumor patients on Bevacizumab. J Neurooncol. 2015;124(3):501–6. DOI: 10.1007/s11060-015-1868-0

10 Han X., Xu K., Taratula O., Farsad K. Applications of nanoparticles in biomedical imaging. Nanoscale. 2019;11(3):799–819. DOI: 10.1039/c8nr07769j

11 Chen K.T., Wei K.C., Liu H.L. Theranostic strategy of focused ultrasound induced blood-brain barrier opening for CNS disease treatment. Front Pharmacol. 2019;10:86. DOI: 10.3389/fphar.2019.00086

12 Grabrucker A.M., Chhabra R., Belletti D., Forni F. Nanoparticles as blood–brain barrier permeable CNS targeted drug delivery systems. Top Med Chem. 2014;10:71–89. DOI: 10.1007/7355_2013_22

13 Dixit S., Novak T., Miller K., Zhu Y., Kenney M.E., Broome A.M. Transferrin receptor-targeted theranostic gold nanoparticles for photosensitizer delivery in brain tumors. Nanoscale. 2015;7:1782–90. DOI:10.1039/c4nr04853a

14 Bien-Ly N., Yu Y.J., Bumbaca D., Elstrott J., Boswell C.A., Zhang Y., et al. Transferrin receptor (TfR) trafficking determines brain uptake of TfR antibody affinity variants. J Exp Med. 2014;211(2):233–44. DOI: 10.1084/jem.20131660

15 Porru M., Zappavigna S., Salzano G., Luce A., Stoppacciaro A., Balestrieri M.L., et al. Medical treatment of orthotopic glioblastoma with transferrin-conjugated nanoparticles encapsulating zoledronic acid. Oncotarget 2014;5:10446–59. DOI: 10.18632/oncotarget.2182

16 Matsumura Y., Maeda H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent SMANCS. Cancer Res. 1986; 46: 6387–92. PMID: 2946403

17 Rajora M., Ding L., Valic M., Jiang W., Overchuk M., Chen J., et al. Tailored theranostic apolipoprotein E3 porphyrin-lipid nanoparticles target glioblastoma tumours. Chem Sci. 2017;8(8):5371–84. DOI: 10.1039/c7sc00732a

18 Hayward S.L., Wilson C.L., Kidambi S. Hyaluronic acid-conjugated liposome nanoparticles for targeted delivery to CD44 overexpressing glioblastoma cells. Oncotarget. 2016;7(23): 34158–71. DOI: 10.18632/oncotarget.8926

19 Rosenblum D., Joshi N., Tao W., Karp J.M., Peer D. Progress and challenges towards targeted delivery of cancer therapeutics. Nat Commun. 2018;9(1):1410. DOI: 10.1038/s41467-018-03705-y

20 Parayath N.N., Amiji M.M. Therapeutic targeting strategies using endogenous cells and proteins. J Control Release. 2017;258:81–94. DOI: 10.1016/j.jconrel.2017.05.004

21 Kumar A., Lee J.-Y., Kim H.-S. Selective fluorescence sensing of 3, 5-dinitrosalicylic acid based on pyrenesulfonamide-functionalized inorganic/organic hybrid nanoparticles. J Ind Eng Chem. 2016;44:82–9. DOI: 10.1016/j.jiec.2016.08.010

22 Anselmo A.C., Mitragotri S. A review of clinical translation of inorganic nanoparticles. AAPS J. 2015;17(5):1041–54. DOI: 10.1208/s12248-015-9780-2

23 Sherwood J., Xu Y., Lovas K., Qin Y., Bao Y. Surface functionalization of dopamine coated iron oxide nanoparticles for various surface functionalities. J Magn Magn Mater. 2017;427:220–4. DOI: 10.1016/j.jmmm.2016.10.039

24 Sofias A.M., Dunne M., Storm G., Allen C. The battle of “nano” paclitaxel. Adv Drug Deliv Rev. 2017;122:20–30. DOI: 10.1016/j.addr.2017.02.003

25 Hu Q., Gao X., Gu G., Kang T., Tu Y., Liu Z., et al. Glioma therapy using tumor homing and penetrating peptide-functionalized PEG–PLA nanoparticles loaded with paclitaxel. Biomaterials. 2013;34(22):5640–50. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2013.04.025

26 Xin H., Sha X., Jiang X., Zhang W., Chen L., Fang X. Anti-glioblastoma efficacy and safety of paclitaxel-loading Angiopep-conjugated dual targeting PEG-PCL nanoparticles. Biomaterials. 2012;33(32):8167–76. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2012.07.046

27 Colen C.B., Shen Y., Ghoddoussi F., Yu P., Francis T.B., Koch B.J., et al. Metabolic targeting of lactate efflux by malignant glioma inhibits its invasiveness and induces necrosis: an in vivo study. Neoplasia. 2011;13(7):620–32. PMID: 21750656

28 Cheng Y., Dai Q., Morshed R.A., Fan X., Wegscheid M.L., Wainwright D.A., et al. Blood–brain barrier permeable gold nanoparticles: an efficient delivery platform for enhanced malignant glioma therapy and imaging. Small. 2014;10(24):5137–50. DOI: 10.1002/smll.201400654

29 Pang L., Qin J., Han L., Zhao W., Liang J., Xie Z., et al. Exploiting macrophages as targeted carrier to guide nanoparticles into glioma. Oncotarget. 2016;7(24):37081–91. DOI: 10.18632/oncotarget.9464

30 Ren Y., Kang C.S., Yuan X.B., Zhou X., Xu P., Han L., et al. Co-delivery of as-miR-21 and 5-FU by poly(amidoamine) dendrimer attenuates human glioma cell growth in vitro. J Biomater Sci Polym. 2010;21(3):303–14. DOI: 10.1163/156856209X415828

31 Yang J., Li Y., Zhang T., Zhang X. Development of bioactive materials for glioblastoma therapy. Bioact Mater. 2016;1(1):29–38. DOI: 10.1016/j.bioactmat.2016.03.003

32 Khalid M.K., Asad M., Henrich-Noack P., Sokolov M., Hintz W., Grigartzik L., et al. Evaluation of toxicity and neural uptake in vitro and in vivo of superparamagnetic iron oxide nanoparticles. Int J Mol Sci. 2018;19(9): E2613. DOI: 10.3390/ijms19092613

33 Pathak R.A., Hemal A.K. Intraoperative ICG-fluorescence imaging for robotic-assisted urologic surgery: current status and review of literature. Int Urol Nephrol. 2019, March 22. DOI: 10.1007/s11255-019-02126-0

34 Stanga P.E., Lim J.I., Hamilton P. Indocyanine green angiography in chorioretinal diseases: indications and interpretation: an evidence-based update. Ophthalmology. 2003;110(1):15–21. PMID: 12511340

35 Halle B.M., Poulsen T.D., Pedersen H.P. Indocyanine green plasma disappearance rate as dynamic liver function test in critically ill patients. Acta Anaesthesiol Scand. 2014;58(10):1214–9. DOI: 10.1111/aas.12406

36 Takagi Y., Kikuta K., Nozaki K., Sawamura K., Hashimoto N. Detection of a residual nidus by surgical microscope-integrated intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography in a child with a cerebral arteriovenous malformation. J Neurosurg. 2007;107(5):416–8. DOI: 10.3171/PED-07/11/416

37 Shen C., Wang X., Zheng Z., Gao C., Chen X., Zhao S., et al. Doxorubicin and indocyanine green loaded superparamagnetic iron oxide nanoparticles with PEGylated phospholipid coating for magnetic resonance with fluorescence imaging and chemotherapy of glioma. Int J Nanomedicine. 2018;14:101–17. DOI: 10.2147/IJN.S173954

38 Pillai G. Nanomedicines for cancer therapy: an update of FDA approved and those under various stages of development. SOJ Pharm Pharm Sci. 2014;1(2):13. DOI: 10.15226/2374-6866/1/2/00109.

39 Fabel K., Dietrich J., Hau P., Wismeth C., Winner B., Przywara S., et al. Long-term stabilization in patients with malignant glioma after treatment with liposomal doxorubicin. Cancer. 2001;92(7):1936–42. PMID: 11745268

40 Hau P., Fabel K., Baumgart U., Rümmele P., Grauer O., Bock A., et al. Pegylated liposomal doxorubicin-efficacy in patients with recurrent high-grade glioma. Cancer. 2004;100(6):1199–207. DOI: 10.1002/cncr.20073

41 Ananda S., Nowak A.K., Cher L., Dowling A., Brown C., Simes J., et al. Phase 2 trial of temozolomide and pegylated liposomal doxorubicin in the treatment of patients with glioblastoma multiforme following concurrent radiotherapy and chemotherapy. J Clin Neurosci. 2011;18(11):1444–8. DOI: 10.1016/j.jocn.2011.02.026

42 Papademetriou I.T., Porter T. Promising approaches to circumvent the blood-brain barrier: progress, pitfalls and clinical prospects in brain cancer. Ther Deliv. 2015;6(8):989–1016. DOI: 10.4155/tde.15.48