

НАНОТЕХНОЛОГИИ В ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ

В.Ф. Семиглазов¹, Р.М. Палтуев¹, В.В. Семиглазов², Г.А. Дашян¹,
А.А. Бессонов¹, К.Д. Пеньков¹, А.Г. Васильев¹

¹ ФГУ "НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова" Росмедтехнологий, Санкт-Петербург

² СПбГМУ им. Акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург

Нанобиотехнология – активно развивающаяся область нанотехнологии, включает биомедицинское применение систем наноразмеров. Наноматериалы размером от 1 до 1000 нм предоставляют возможность уникального взаимодействия с биологическими системами на молекулярном уровне, что может иметь большое значение при обнаружении, диагностике и лечении рака. Открывающиеся перспективы привели к образованию новой дисциплины – наноонкологии. Использование наночастиц – это новый метод таргетного воздействия, повышающий эффективность и снижающий токсичность как существующих, так и новых противоопухолевых препаратов. Ожидается, что в ближайшем будущем внедрение нанотехнологий приведет к революционным изменениям не только в онкологии, но и в медицине в целом.

Ключевые слова: рак молочной железы, нанотехнологии, наноонкология, наночастицы

Введение

Нанобиотехнология, в рамках которой разрабатывается биомедицинское применение систем, имеющих наноразмеры, – активно развивающаяся область нанотехнологии. Наноматериалы размером от 1 до 1000 нм предоставляют возможность уникального взаимодействия с биологическими системами на молекулярном уровне. Методы нанобиотехнологии могут быть использованы при обнаружении, диагностике и лечении рака, что привело к образованию новой дисциплины – наноонкологии [1, 2]. Возможность применения наночастиц разрабатывается для визуализации опухоли *in vivo*, биомолекулярного профилирования биомаркеров опухолевого роста и таргетной доставки препаратов. Эти методики, основанные на нанотехнологии, могут широко применяться в онкологии.

Хорошо известно, что рак молочной железы (РМЖ) может экспрессировать белковые биомаркеры, например рецепторы эстрогенов и прогестерона, на основании наличия которых планируется лечение заболевания. Применение полупроводниковых флуоресцентных нанокристаллов, используемых в качестве квантовых точек различных размеров и с разным спектром излучения с целью визуализации антител, позволяет одновременно классифицировать и точно определять количество этих таргетных белков в одной опухолевой

секции [3]. Использование золото-содержащих наночастиц (например, зондов Raman) обеспечивает определение качественной и количественной характеристики нескольких протеинов в одной секции опухоли. Это позволяет планировать специфическую противоопухолевую терапию, основываясь на индивидуальном белковом профиле конкретного пациента [4]. Возможность обнаружения нескольких молекулярных мишеней одновременно в образцах опухоли позволяет определить характер связи между продуктами гена и протеинами в режиме реального времени [5]. Кроме того, эффекты индивидуализированного лечения, основанные на экспрессии таргетных протеинов, могут проверяться до и после лечения, что позволяет быстро оценивать эффективность таргетной терапии.

Нанотехнологические методы (например, применение наноконсолей и нанозондов) активно исследуются с целью применения их для диагностики опухолевого процесса [6], т. е. наночастицы, объединенные с раково-специфическими таргетными лигандами могут использоваться для раннего обнаружения опухолей, что обеспечивает своевременное вмешательство с использованием химиопреventивного агента, а также выявление отдаленных метастазов [7]. Многообещающие результаты получены при использовании сверхмагнитных наночастиц с металлическим ядром, биоконъюгиро-

ванных с антителами против HER2/neu при одновременной визуализации опухоли и таргетном терапевтическом воздействии *in vivo* [8].

Изучается несколько нанотехнологических подходов, направленных на улучшение доставки химиотерапевтических агентов к опухолевым клеткам с целью минимизации токсических эффектов препаратов на здоровые ткани при сохранении противоопухолевой эффективности. Доксорубин был соединен с липосомальной системой доставки в комплекс, наночастицы которого сохраняли эффективность, но при этом токсическое действие препарата на миокард было снижено [9, 10]. Одна из таких систем доставки (липосомальный доксорубин с ковалентно присоединенным полиэтиленгликолем – пегилированный липосомальный доксорубин, ПЛД) одобрена для лечения рефрактерного рака яичников и саркомы Капоши в США. Наночастицы связанного альбумином паклитаксела (NAB) также более эффективны по сравнению с традиционной формой растворенного в касторовом масле паклитаксела при большей безопасности применения [11, 12]. Препарат утвержден в США для лечения метастатического РМЖ.

Конкурентная визуализация и таргетная терапия

Как было сказано выше, наночастицы могут быть соединены с лиганда-

ми, обладающими различным аффинитетом, и использоваться как средства контрастирования, что позволяет визуализировать структуры доклеточного уровня *in vivo*. Наночастицы, объединенные с таргетными антителами, одновременно могут быть использованы для диагностики и противоопухолевого лечения. Предварительные исследования *in vitro* и *in vivo* продемонстрировали большой потенциал данного метода [8, 13, 14]. В одной из методик для конъюгации таргетных лигандов с наночастицами (анти-HER2/неу антитела с модифицированной металлической наночастицей для формирования нанооболочки) [15] используют биотин и стрептавидин в качестве средств объединения. Конструкция состоит из сферического диэлектрического ядра наночастицы, сделанного из кремния и окруженного тонкой золотой оболочкой. Эти нанооболочки, излучающие околоинфракрасный спектр, превращают свет в тепловую энергию и используются для термальной абляции опухоли. Тепловая индукция после экспозиции в околоинфракрасном

спектре почти в миллион раз эффективнее по сравнению с молекулами-красителями [15].

Ito A. и соавт. [13] после проведения биоконъюгации с анти-HER2-антителами смогли пометить магнитными наночастицами HER2/неу-позитивную клеточную линию SK-BR-3 РМЖ. После экспозиции в околоинфракрасном спектре эти нанозаряды вызывали гипертермию со средним значением температуры значительно выше значений, вызывающих необратимые изменения, приводящие к гибели клеток. Таким образом, таргетные нанозаряды могут использоваться для достижения локализованной необратимой фототермальной абляции опухолевой ткани РМЖ *in vivo*.

Наночастицы могут применяться и с целью туморселективной доставки противоопухолевых агентов для усиления эффекта поражения опухолевых клеток при условии защиты здоровых тканей от воздействия цитотоксических агентов и снижения системных токсических эффектов. Было проведено множество доклинических исследо-

ваний по использованию наночастиц как средств таргетной терапии в онкологии. Некоторые из этих идей уже нашли клиническое применение.

Липосомальные антрациклины

Антрациклины остаются одними из наиболее активных агентов, применяемых для лечения РМЖ [16], и широко используются в лечении всех стадий заболевания. Однако использование антрациклинов ограничено кардиотоксическими эффектами, проявляющимися при достижении высокой кумулятивной дозы. Трастузумаб — моноклональное антитело к HER2/неу, улучшил качество лечения агрессивной формы РМЖ [17, 18], однако его применение также ограничено риском кардиотоксического эффекта, проявляющегося почти исключительно у пациенток, ранее получавших лечение антрациклинами [17]. Липосомальные формы антрациклинов были разработаны с целью повышения терапевтического индекса по сравнению с традиционными формами при сохранении широкой противоопухолевой активно-

Международный онкологический научно-образовательный форум

ОНКОХИРУРГИЯ-2010

«В будущее через новые технологии»

31 мая – 2 июня 2010 года, г. Москва

Организаторами Форума являются Всемирная Федерация обществ хирургических онкологов (WFSOS), Федеральное медико-биологическое Агентство (ФМБА), Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна Федерального медико-биологического агентства (ФМБЦ ФМБА), Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического Агентства, Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена (МНИОИ им. П.А. Герцена), портал ONCOLOGY.ru®, редакция журнала «Онкохирургия», Российское партнерство специалистов по опухолям головы и шеи.

Форум проводится при содействии Ассоциации Онкологов России.

В рамках Форума планируется проведение Сессии WFSOS «Глобализация мировых стандартов в онкохирургии: научно-образовательные программы».

Всех заинтересованных просим обращаться на портал WWW.ONCOLOGY.ru для получения дополнительной информации



сти. Три липосомальных антрацикли-на, представленных наночастицами размером около 100 нм, исследуются с целью применения при РМЖ: липосомальный даунорубидин, одобренный в США для лечения саркомы Капоши; липосомальный доксорубидин, который в комбинации с циклофосфамидом утвержден для лечения метастатического РМЖ в Европе; ПЛД (с присоединенным полиэтиленгликолем), утвержденный в США для лечения как саркомы Капоши, так и рефрактерного рака яичников.

Как липосомальный доксорубидин, так и ПЛД прошли сравнение со стандартной формой доксорубидина в качестве первой линии терапии у больных метастатическим РМЖ [9, 10]. Включенные в исследование 297 больных с метастатическим РМЖ, ранее не получавших никакого химиотерапевтического лечения, были рандомизированы к получению 60 мг/м² липосомального доксорубидина или 60 мг/м² стандартного доксорубидина в сочетании с 600 мг/м² циклофосфамида каждые 3 недели до прогрессирования заболевания или появления неприемлемых токсических эффектов. Эффективность терапии в двух группах существенно не различалась (ответ на лечение 43 и 43 %, среднее время до прогрессирования – 5,1 против 5,5 месяца, медиана выживаемости – 19 против 16 месяцев) [9]. Однако кардиотоксический эффект наблюдался у значительно меньшего числа больных, получавших липосомальный доксорубидин (6 против 21 %, $p = 0,0001$) [9]. Таким образом, вероятность кардиотоксического эффекта у больных, получающих липосомальный доксорубидин, в 3,5 раза ниже по сравнению с пациентками, получающими препарат в стандартной форме.

ПЛД (50 мг/м² каждые 4 недели) сравнивали со стандартным доксорубидином (60 мг/м² каждые 3 недели) у 509 больных метастатическим РМЖ [19]. Оба препарата продемонстрировали одинаковую эффективность с частотой ответа в 33 и 38 % соответственно и временем до прогрессирования 6,9 и 7,8 месяца соответственно [10]. Риск развития кардиотоксического эффекта был существенно ниже у пациен-

ток, получавших ПЛД (в пропорции 3 : 16; $p < 0,001$). Нейтропения и гастроинтестинальные токсические эффекты чаще отмечались у больных, получавших доксорубидин, в то время как ладонно-подошвенный синдром чаще наблюдался при применении ПЛД.

Липосомальный доксорубидин исследовали в комбинации с трастузумабом в клинических исследованиях I–II фаз у больных метастатическим РМЖ. При этом ответ на лечение достигал 59 %, несмотря на то что пациентки могли получать трастузумаб ранее. Кардиотоксический эффект проявился у двух больных, при этом они ранее получали доксорубидин в стандартной форме [20]. Антрациклины высокоэффективны при HER2/неу-положительном РМЖ [17], поэтому применение комбинации липосомальных форм препарата с трастузумабом имеет большие перспективы.

НАВ-паклитаксел

Таксаны (паклитаксел и доцетаксел) относятся к числу наиболее важных терапевтических препаратов в лечении солидных опухолей и широко используются на всех стадиях РМЖ. Оба препарата обладают сильными гидрофобными свойствами, поэтому нуждаются в синтетических средствах доставки (полиэтилированное касторовое масло для паклитаксела и полисорбат-этанол для доцетаксела). Токсические эффекты имеются у обоих препаратов и во многом связаны с синтетическими средствами доставки, а не с самими химиотерапевтическими средствами [21,22]. Несколько новых лекарственных форм таксанов были разработаны с целью ослабления их токсического действия. НАВ-паклитаксел – наночастица с ядром, содержащим паклитаксел, окруженный альбумином (наиболее подходящей оболочкой для гидрофобной молекулы), продемонстрировал высокую эффективность при лечении РМЖ.

Доклинические исследования показали, что НАВ-паклитаксел способен лучше проникать в ткань опухоли по сравнению со стандартными формами паклитаксела [23]. В исследовании II фазы, в которое были включены 63 больных метастатическим РМЖ, ответ

на лечение НАВ-паклитакселом в дозе 300 мг/м² каждые 3 недели был продемонстрирован в 48 % случаев.

В исследовании III фазы [10] проводили сравнение НАВ-паклитаксела со стандартной формой этого таксана. Четыреста шестьдесят больных метастатическим РМЖ, ранее не получавших таксаны, были рандомизированы к получению НАВ-паклитаксела или паклитаксела на основе касторового масла 1 раз в три недели до появления признаков прогрессирования. Общий ответ на лечение был значительно выше у больных, получавших НАВ-паклитаксел вне зависимости от линии терапии (33 против 19 %; $p = 0,001$). Время до прогрессирования было значительно большим в группе НАВ-паклитаксела (23 против 17 недель; $p = 0,006$) [10], хотя общая выживаемость достоверно не различалась ($p = 0,374$). В группе больных, получавших НАВ-паклитаксел, отмечена лучшая переносимость препарата. Реакций гиперчувствительности отмечено не было, хотя пациентки, лечившиеся НАВ-паклитакселом, до включения в исследование не получали никаких лекарственных средств. Нейтропения IV степени отмечалась значительно реже, а нейропатия III степени – значительно чаще у больных, получавших НАВ-паклитаксел, по сравнению с пациентками, лечившимися стандартной формой таксана ($p < 0,001$).

В другом исследовании [24] НАВ-паклитаксел назначали с недельным перерывом больным метастатическим РМЖ, ранее получавшим многокомпонентное лечение. Ответ на лечение наблюдался у пациенток, ранее получавших паклитаксел, доцетаксел или оба препарата. При таком режиме терапии частота нейропатии снижалась.

Таким образом, паклитаксел в форме наночастиц имеет преимущества перед стандартной формой препарата за счет снижения токсических эффектов, отсутствия необходимости в премедикации и более высокой эффективности.

Фторурацил (ФУ), загруженный в наночастицы PEG-PBLG (ФУ/PEG-PBLG), продемонстрировал улучшенные фармакокинетические характери-

стики, включая постоянное высвобождение препарата, увеличенный период полужизни и повышенное сродство к опухолевой ткани. *In vivo* наночастицы ФУ/PEG-PBLG показали хорошую противоопухолевую активность в отношении ксенографтов рака ободочной кишки и плоскоклеточной карциномы рта. Система доставки PEG-PBLG может эффективно ослаблять побочные эффекты ФУ и увеличивать его терапевтический индекс.

Таргетная доставка тамоксифена

Примерно в 75 % случаев РМЖ отмечается экспрессия рецепторов стероидных гормонов. Примерно у 50 % больных с такой экспрессией возможна эффективная гормонотерапия. Тамоксифен остается препаратом, который широко используется при всех стадиях РМЖ как в пре-, так и в постменопаузе. Препарат подвергается значительным метаболическим воздействиям, препятствующим его попаданию в ткань опухоли, что может нивелировать его эффект. Shenoy D.B. и Amiji M.M. [25] разработали несущую тамоксифен полимерную наночастицу, способную усиливать проникновение препарата в ткань опухоли. Используя ксенографтную модель РМЖ человека, они продемонстрировали значительно большее накопление тамоксифена в

ткани опухоли у мышей, получавших тамоксифен-несущие наночастицы, по сравнению с мышами, которым стандартный препарат вводили внутривенно. Использование наночастиц в качестве переносчиков тамоксифена способствует улучшению проникновения препарата в опухолевые ткани, его более селективному воздействию и, следовательно, ослаблению токсических эффектов лекарственных средств.

Заключение

Биологическое применение наночастиц — быстроразвивающаяся область нанотехнологии, открывающая новые возможности в диагностике и лечении злокачественных новообразований человека. В целях диагностики рака флуоресцентные наночастицы могут использоваться для многокомпонентного одномоментного профилирования биомаркеров опухоли и обнаружения различных генов, а также матричной РНК методом флуоресцентной *in situ* гибридизации. В ближайшем будущем использование объединенных наночастиц позволит одновременно определять по меньшей мере 10 онкобелков в крошечной секции опухоли. Это создаст почву для развития методики определения индивидуального протеомного профиля опухоли. Супермагнитные наночастицы могут

эффективно использоваться в целях контрастирования для обнаружения рака *in vivo*, а также для контроля проводимого лечения. Несколько химиотерапевтических агентов уже испытаны в форме наночастиц и имеют по крайней мере эквивалентную эффективность при меньшей токсичности по сравнению с традиционными формами. В скором времени использование наночастиц позволит прицельно воздействовать на опухоль, доставляя лекарственные средства уникальным образом.

На основании данных, полученных с помощью наночастиц, может планироваться адекватное лечение. При помощи наночастиц-меток можно сравнивать экспрессию гена и кодируемого им протеина в опухоли. Быстро развивается область применения наночастиц для визуализации опухолевого процесса *in vivo* с одновременным целенаправленным воздействием на опухолевые антигены (мишени).

Применение наночастиц — это новый метод таргетного воздействия, повышающий эффективность и снижающий токсичность как существующих, так и новых противоопухолевых препаратов. Ожидается, что в ближайшем будущем внедрение нанотехнологий приведет к революционным изменениям не только в онкологии, но и в медицине в целом.

ЛИТЕРАТУРА

- Jain K. Nanotechnology in clinical laboratory diagnostics. *Clin Chim Acta* 2005;358:37–54.
- Ferrari M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges. *Nat Rev Cancer* 2005; 5:161–71.
- Yezhelyev M, Morris C, Gao X, et al. Multiple profiling of human breast cancer cell lines with quantum dots–Ab conjugates. *Proc Am Assoc Cancer Res* 2005;46:510 (abstr).
- Jain K. Personalised medicine for cancer: from drug development into clinical practice. *Expert Opin Pharmacother* 2005;6:1463–76.
- Chan P, Yuen T, Ruf F, et al. Method for multiplex cellular detection of mRNAs using quantum dot fluorescent *in situ* hybridization. *Nucleic Acids Res* 2005;33:161.
- Fortina P, Kricka LJ, Surrey S, et al. Nanobiotechnology: the promise and reality of new approaches to molecular recognition. *Trends Biotechnol* 2005;23:168–73.
- Gao X, Cui Y, Levenson RM, et al. *In vivo* cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. *Nat Biotechnol* 2004;22:969–76.
- Artemov D, Mori N, Okollie B, et al. MR molecular imaging of the Her-2/neu receptor in breast cancer cells using targeted iron oxide nanoparticles. *Magn Reson Med* 2003;49:403–8.
- Batist G, Ramakrishnan G, Rao CS, et al. Reduced cardiotoxicity and preserved antitumor efficacy of liposome-encapsulated doxorubicin and cyclophosphamide compared with conventional doxorubicin and cyclophosphamide in a randomized, multicenter trial of metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2001;19:1444–54.
- O'Brien ME, Wigler N, Inbar M, et al. Reduced cardiotoxicity and comparable efficacy in a phase III trial of pegylated liposomal doxorubicin HCL (Caelyx/DoxilR) versus conventional doxorubicin for first-line treatment of metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2004;15:440–49.
- Gradishar WJ, Tjulandin S, Davidson N, et al. Phase III trial of nanoparticle albumin-bound paclitaxel compared with polyethylated castor oil-based paclitaxel in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:7794–803.
- Ibrahim NK, Samuels B, Page R, et al. Multicenter phase II trial of ABI-007, an albumin-bound paclitaxel, in women with metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2005;23:6019–26.
- Ito A, Shinkai M, Honda H, Kobayashi T. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. *J Biosci Bioeng* 2005;100:1–11.
- Weissleder R, Hahn PF, Stark DD, et al. Superparamagnetic iron oxide: enhanced detection of focal splenic tumors with MR imaging. *Radiology* 1988;169:399–403.
- Hirsch LR, Stafford RJ, Bankson J, et al. Nanoshell-

- mediated nearinfrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:13549–54.
16. Vogel CL, Cobleigh MA, Tripathy D, et al. Efficacy and safety of trastuzumab as a single agent in first-line treatment of HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:719–26.
17. Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001;344:783–92.
18. Romond EH, Perez EA, Bryant J, et al. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005;353:1673–84.
19. Sparano A, Makhson AN, Semiglazov V.F. et al. Pegylated Liposomal Doxorubicin Plus Docetaxel Significantly Improves Time to Progression without Additive Cardiotoxicity Compared With Docetaxel Monotherapy in Patients With Advanced Breast Cancer Previously Treated With Neoadjuvant-Adjuvant Anthracycline Therapy: Results From a Randomized Phase III Study. *J Clin Oncol* 2009;27(27):4522–29.
20. Theodoulou M, Campos SM, Batist G, et al. TLC D99 (Myocet) and Herceptin is safe in advanced breast cancer: final cardiac safety and efficacy analysis. *Proc Am Soc Clin Oncol* 2002; 21:55a (abstr).
21. Gelderblom H, Verweij, Nooter, K, et al. Cremaphor EL: The drawbacks and advantages of vehicle selection for drug formulation. *Eur J Cancer* 2001;37:1590–98.
22. Weiss RB, Donehower RC, Wiernik PH, et al. Hypersensitivity reactions from Taxol. *J Clin Oncol* 1990;8:1263–68.
23. Sparreboom A, Scripture CD, Trieu V, et al. Comparative preclinical and clinical pharmacokinetics of a cremophor-free, nanoparticle albumin-bound paclitaxel (ABI-007) and paclitaxel formulated in Cremophor (Taxol). *Clin Cancer Res* 2005;11:4136–43.
24. O'Shaughnessy JA, Blum JL, Sandbach JF, et al. Weekly nanoparticle albumin paclitaxel (Abraxane) results in long-term disease control in patients with taxane-refractory metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2004;88:S65 (abstr 1070).
25. Shenoy DB, Amiji MM. Poly(ethylene oxide)-modified poly(epsilon-caprolactone) nanoparticles for targeted delivery of tamoxifen in breast cancer. *Int J Pharm* 2005;293:261–70.

Информация об авторах:

Семиглазов Владимир Федорович — член-корр. РАМН, профессор, руководитель хирургического отдела и отделения опухолей молочной железы ФГУ НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий.

E-mail: ssemiglazov@mail.ru;

Палтуев Руслан Маликович — кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения опухолей молочной железы ФГУ НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий.

E-mail: paltuev@mail.ru;

Семиглазов Владислав Владимирович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии СПГМУ им. акад. И.П. Павлова.

E-mail: ssemiglazov@mail.ru;

Дашян Гарик Альбертович — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения опухолей молочной железы ФГУ НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий.

E-mail: dgarik@mail.ru;

Бессонов Александр Алексеевич — клинический ординатор ФГУ НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий.

Тел. 8 (812) 596-86-03;

Пеньков Константин Дмитриевич — клинический ординатор ФГУ НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий.

Тел. 8 (812) 596-86-03;

Васильев Александр Геннадьевич — аспирант ФГУ НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова Росмедтехнологий.

Тел. 8 (812) 596-86-03