

Противоопухолевые эффекты *in vitro* и *in vivo* липидных композитов цисплатина и наночастиц ферромагнетика в углеродной оболочке

Антипов С.А.¹, Федущак Т.А.², Кокорев О.В.³, Геренг Е.А.¹, Дамбаев Г.Ц.¹, Ермаков А.Е.⁴, Уймин М.А.⁴, Хлусов И.А.¹

Antitumor *in vitro* and *in vivo* effects of lipid composites of cisplatin and ferromagnetic nanoparticles capsulated by carbonic coating

Antipov S.A., Feduschak T.A., Kokorev O.V., Gereng Ye.A., Dambayev G.Ts., Yermakov A.Ye., Uymin M.A., Khlusov I.A.

¹ Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

² Институт химии нефти СО РАН, г. Томск

³ НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы при Томском государственном университете, г. Томск

⁴ Институт физики металлов УрО РАН, г. Екатеринбург

© Антипов С.А., Федущак Т.А., Кокорев О.В. и др.

Исследование посвящено изучению реакций клеток аденокарциномы Эрлиха в системе *in vitro* и *in vivo* при прямом контакте с композитами, выполненными на основе фосфолипидного концентрата, цисплатина и наноразмерного ферромагнетика в углеродной оболочке. Установлено, что противоопухолевый эффект композитов, с одной стороны, обусловлен прямым цитотоксическим, относительно избирательным действием на опухолевые клетки, а, с другой стороны, стимуляцией фиброза опухолевого узла. Предложенный биотехнологический подход с использованием низких доз цитостатика (1/10 ЛД₅₀) и наноферромагнетика (2 мг/кг массы тела), может оказаться полезным в плане разработки магнитоуправляемых режимов для региональной иммуно-, биотерапии рака и его метастазов.

Ключевые слова: аденокарцинома Эрлиха, жизнеспособность, мицеллы, цитостатик.

An investigation of *in vitro* and *in vivo* reaction of adenocarcinoma cells in conditions of direct contact with composites designed in a base of phospholipid concentrate, cisplatin and nanoparticles (diameter less than 10 nm) of iron capsulated by carbonic coating was the aim of paper. Their antitumor effect has been established to be conditioned by direct cytotoxic relatively elective action on malignant cell and, on the other hand, by stimulation of tumor node fibrosis. Proposed biotechnological approach that used low doses of cytostatic drug (1/10 LD₅₀) and nanoferromagnetic particles (2 mg/kg) may be useful to design magnetocontrollable regimes for regional immuno(bio)therapy of cancer and its metastases.

Key words: adenocarcinoma, viability, micelles, cytostatic drug.

УДК 615.277.3:577.352.2:537.622.4-022.532-032.3:57.085

Введение

В связи с разнообразием механизмов неоплазии существуют и многообразные подходы к противоопухолевой терапии. Одним из наиболее старых методов лечения злокачественных опухолей является биотерапия — метод лечения рака путем активизации естественных защитных механизмов или введения естественных полимерных молекул и антигенов [9], который включает главным образом иммунотерапию [9, 10]. В

настоящее время интерес к данному способу снова возрос по причине недостаточной эффективности существующих методов терапии при запущенных формах онкологических заболеваний [14].

Другим объяснением является вторичный иммунодефицит, характерный для онкологических пациентов [15] и выражающийся в снижении морфофункциональной активности Т-лимфоцитов, естественных киллеров, системы мононуклеарных фагоцитов, лимфо-

кинактивированных киллерных (ЛАК) клеток и других элементов, отвечающих за развитие противоопухолевой защиты. Большинство существующих в настоящее время методов лечения онкологических заболеваний (облучение, химиотерапия, массивные оперативные вмешательства) также индуцируют клеточную иммуносупрессию [4].

Одним из сложных и нерешенных вопросов противоопухолевой терапии является создание терапевтически эффективных локальных концентраций препаратов, регуляторных молекул и активированных иммунокомпетентных клеток непосредственно в опухолевой ткани. Современные биотерапевтические подходы к системному и регионарному лечению онкологических заболеваний предполагают реализацию «адресной» доставки фармацевтических веществ. Она подразумевает применение нано- и микроразмерных носителей: полимерных и металлических наночастиц, липосом, нисом, мицелл, квантовых точек, дендримеров, микрокапсул, клеток, микрочастиц твердых жиров, липопротеинов [31].

Липосомальные системы как средства доставки лекарств и биологических молекул разрабатываются с 80-х гг. XX в. [2]. Липосомы, содержащие цитостатические препараты, считаются перспективными с точки зрения понижения системной токсичности и так называемого пассивного нацеливания в опухолевую ткань [12]. Традиционным сырьем для изготовления липосомальных систем обычно являются высокоочищенный яичный фосфатидилхолин, фосфолипиды растительного и животного происхождения [1].

Включение в состав липосом наноразмерных ферромагнетиков позволяет получить их магнитоуправляемые формы [6]. Носителями магнитных свойств чаще всего служат наноразмерные порошки железа, его гидроксиды или оксиды [3, 16]. Хорошо известно, что наночастицы и нанопорошки металлов характеризуются высокой реакционной способностью и каталитической активностью [11]. При этом такого рода наноферромагнетики обладают собственной токсичностью для клеток, тканей и компонентов биологических жидкостей [25], обусловленной их участием в свободно-радикальных процессах [8].

Не менее интересны и более просты в приготовлении магнитные жидкости на основе мицеллярных растворов биополимеров, лекарственных веществ и наноферромагнетиков. Их фармакологическая актив-

ность также является предметом пристального внимания исследователей [33]. Для мицеллярных систем, так же как и для липосом, реализуется эффект повышенной проницаемости и удержания в опухоли, за счет которого реализуется селективная доставка по механизму «пассивного нацеливания» [22].

Несмотря на достигнутые успехи, еще рано делать окончательные выводы в области нанотерапии рака. Хотя во многих случаях были показаны низкая токсичность и безопасность протоколов биотерапии, эффективность испытаний, выполненных в настоящее время, оставляет желать лучшего [32]. В связи с этим синтез и биологические свойства наноразмерных, магниточувствительных, липидных форм противоопухолевых препаратов вызывают несомненный научно-практический интерес.

Представляется вполне актуальным опробовать для медицинских целей наноферромагнетики с инертной относительно химических и биологических субстратов поверхностью. С этой точки зрения эффективными могут оказаться нанопорошки металлов, покрытые защитной углеродной оболочкой, которая предохраняет металлическое ядро от воздействия факторов окружающей среды. Литературные сведения о применении такого рода объектов в составе биологических систем весьма ограничены и касаются в основном химической модификации их поверхности [19].

Общепринятыми считаются три ключевые стратегии определения токсичности и биологической специфичности действия наноматериалов: исследование их физико-химических характеристик, а также анализ активности в условиях *in vitro* и *in vivo* [25].

Цель исследования — изучение реакции клеток аденокарциномы Эрлиха в системе *in vitro* и *in vivo* на введение композитов, изготовленных из фосфолипидного концентрата, цисплатина и наноразмерного ферромагнетика в углеродной оболочке.

Материал и методы

Наноразмерные порошки железа в углеродной оболочке Fe(C) были приготовлены путем испарения металла с последующей его конденсацией в потоке инертного газа, содержащего углеводороды. В процессе газофазного синтеза на поверхности частиц происходит высокотемпературный пиролиз углеводорода. Образующийся при этом углерод осаждается на поверхности наночастиц. Средний размер частиц

Fe(C), использованных в данной работе, не превышал 10 нм, согласно данным, полученным на электронном микроскопе JEOL-840.

Магнитные характеристики наноферромагнетиков определяли с помощью весов Фарадея. Начальный участок кривой намагничивания для Fe(C) сравнительно пологий, что связано с малыми размерами частиц и обусловленным этой малостью явлением суперпарамагнетизма.

Инфракрасные (ИК) спектры, записанные на ИК-спектрометре Фурье Nexus Nicolet N5700 в таблетках с KBr, показали отсутствие на поверхности Fe(C) функциональных групп.

Наличие кислотных центров на поверхности наноферромагнетика определяли методом термодесорбции газообразного аммиака [13]. Согласно спектрам термодесорбции, молекулы-зонды NH₃ на гетерогенной поверхности нанопорошка Fe(C) не сорбируются.

Устойчивость нанопорошков относительно кислорода воздуха определена методом неизотермического окисления на воздухе в условиях программируемого нагрева (дериватограф Q-1500 D). Согласно данным дифференциального термического анализа, нарушение сплошности углеродного слоя на поверхности наночастиц железа происходит при температуре свыше 100 °С.

В рамановском спектре нанопорошка Fe(C) присутствуют два больших пика, что дает возможность предположить для углеродной оболочки присутствие в ней двух гибридных состояний — sp³ и sp². Толщина внешнего защитного слоя не превышает 1—2 нм.

Каталитическую активность нанопорошков относительно реакций, протекающих по свободно-радикальному механизму, оценивали по стандартной методике, разработанной в Институте химической физики РАН (г. Москва) на модельной реакции инициированного окисления изопропилбензола (кумола) при температуре 60 °С (инициатор АИБН, C₃H₁₂N₄, азо-бис-изобутиронитрил, температура 60 °С; скорость инициирования $w_i = 6,8 \cdot 10^{-8}$ л/(моль · с)). Измерения выполняли на микрокалориметре МКДП-2 (изготовлен в Институте химии нефти СО РАН (г. Томск), чувствительность регистрации теплового потока 10⁻⁶ Дж/см). Тепловые эффекты Q, зарегистрированные для образцов Fe(C), составили $+11 \cdot 10^5 \pm 2$ Дж/с.

Нанодисперсии Fe(C) с раствором цитостатика (цисплатин-ЛЭНС) готовили в фосфатном буфере в присутствии фосфолипидного концентрата из хрома-

тографически очищенного соевого концентрата (NSP, Китай), содержащего (по результатам анализа методом тонкослойной хроматографии) 98% фосфатидилхолина, с помощью ультразвукового воздействия (ультразвуковой дезинтегратор UD-20, мощность 1—8 Вт/см², частота 12 кГц) в среде фосфатного буфера.

Электронный спектр поглощения цисплатина после контакта с нанопорошком Fe(C) остается неизменным в течение 24 ч (спектрофотометр Uvikon 943, толщина слоя 1 мм). Стерилизацию образцов осуществляли на бетатроне СИНУС-2 (Институт сильноточной электроники СО РАН, г. Томск).

Исследуемые системы (табл. 1) применяли *in vitro* и *in vivo* в разовой конечной дозе цисплатина, соответствующей по биологическому эффекту 1/10 средней летальной дозы (ЛД₅₀).

Таблица 1

| Исходный состав компонентов исследуемых композитов | | | | |
|--|--|----------------------|--------------------------|------------------------------|
| Номер системы | Изотонический раствор хлорида натрия, 5 мл | Цисплатин, 0,1 мг/мл | Фосфатидилхолин, 2 мг/мл | Нанопорошок Fe(C), 0,2 мг/мл |
| 1 | + | - | - | - |
| 2 | + | + | - | - |
| 3 | + | + | + | - |
| 4 | + | + | + | + |

В цитостатическом тесте *in vitro* в качестве клеточ-мишеней применяли краткосрочную культуру клеток перевиваемой карциномы Эрлиха. Аденокарцинома Эрлиха поддерживалась в асцитной форме на мышцах линии С57В1/6 в НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск). Для исследований использовали популяции клеток, исходная жизнеспособность которых составляла не менее 90%.

Свежевыделенные опухолевые клетки, или спленоциты (5 · 10⁵ клеток на лунку), инкубировали в 96 луночных планшетах (по восемь лунок на каждую группу) совместно с нанокompозитами (табл. 1) в течение 24 ч при температуре 37 °С при 100%-й влажности с 5% CO₂ в культуральной среде следующего состава: 95% среды RPMI-1640, 5% эмбриональной телячьей сыворотки, 280 мг/л L-глутамин. Для определения числа жизнеспособных клеток использовали краситель (0,4%-й раствор трипанового синего) и технику согласно международному стандарту ISO 10993-5.

Исследования *in vivo* проведены на 40 беспородных мышцах обоего пола массой тела 18—22 г. Адено-

карцинома Эрлиха пассировалась в асцитной форме. Разовая доза перевивки в солидную форму (подкожно, нижняя конечность) составляла $5 \cdot 10^6$ клеток в 0,2 мл фосфатного буфера. Нанокompозиты вводили местно (в область опухолевого роста) в 0,2 мл изотонического раствора хлорида натрия в течение 10 дней, начиная через 24 ч после перевивки опухоли.

На 28-е сут после перевивки опухоли животных умерщвляли под эфирным наркозом, оценивали массу тела мышей, массу и размер опухоли. Интегральную эффективность лечения определяли по относительной массе опухоли (ОМО) — отношению массы опухоли к массе тела животного (в процентах), торможению роста опухоли (ТРО) (в процентах) и количественной морфометрической оценке тонких срезов опухолевой ткани, окрашенных гематоксилином и эозином.

Статистическую обработку результатов проводили методами вариационной статистики с использованием возможностей программы Statistica 6.0 for Windows. Результаты представляли в виде $X \pm m$, где X — выборочное среднее и m — ошибка среднего. На рис. 2 откладывали доверительный интервал. Сравнение средних величин изучаемых показателей проводили с помощью непараметрического U -критерия Манна—Уитни. Критический уровень значимости различий при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты

В современной литературе практически не освещены вопросы, касающиеся взаимосвязи физико-химических свойств наноразмерных порошков металлов и их биологической активности. Постановка эксперимента в данной работе была спланирована как попытка продвинуться в понимании химического состояния поверхности нанопорошка и его биологических свойств.

Тепловые эффекты, зарегистрированные для образца Fe(C) в модельной реакции окисления изопропилбензола, по уровню значений могут соответствовать физическим процессам смачивания и адсорбции, но не связаны с протеканием основной реакции. В соответствии с результатами по термопрограммированной десорбции аммиака, молекулы зонда NH_3 также не сорбируются на поверхности данного образца.

ИК-спектры нанопорошка не показывают полосы функциональных групп. Следовательно, физико-химическое тестирование нанопорошка Fe(C) свиде-

тельствует об отсутствии активных центров, которые смогут обуславливать проявление реакционной способности в химических реакциях, протекающих по кислотному и свободно-радикальному механизмам. Вклад такого рода механизмов в реализацию биологических процессов весьма существен.

Электронный спектр цитостатического препарата в составе нанодисперсии цисплатина и нанопорошка после выдерживания при температуре 37 °С в течение 24 ч не претерпевает изменений. По-видимому, не происходит изомеризации цисплатина в фармакологически неактивный транс-изомер. Данный факт дополнительно демонстрирует интактность металлического ядра Fe(C) в отношении химических факторов окружающей среды в биологических условиях.

Известно, что фосфолипиды являются веществами с амфифильной структурой. Дуализмом молекул обусловлена их самосборка в растворе, приводящая к образованию мицелл, в которых органические фрагменты молекул сближены так, что общая площадь контакта гидрофобных групп растворенной молекулы с водой уменьшена. Для водно-липидных систем в качестве основных типов структурной организации описаны ламеллярные (жидкокристаллическая и гелевая фазы), а также объемные гексагональные фазы [5]. Таким образом, сочетание наноразмерного ферромагнетика, фосфолипидного концентрата и цисплатина в составе единого композита будет предрасполагать к образованию мицеллярных растворов. При этом происходит первичное (ламеллярного типа) (рис. 1) и вторичное (объемное) структурирование липидного композита цисплатина с нанопорошком Fe(C) с относительно равномерным распределением наноферромагнетика в водно-липидной фазе. Полученные мицеллярные растворы липидных композитов при комнатной температуре сохраняли свою целостность без разделения фаз в течение нескольких суток.

Как следует из рис. 2, цисплатин в конечной дозе 1/10 ЛД₅₀ оказывал *in vitro* примерно одинаковое цитотоксическое действие на здоровые и опухолевые клетки, зафиксированное по увеличению проницаемости их цитоплазматических мембран для красителя. Последовательное добавление в систему фосфатидилхолина и наночастиц Fe(C) статистически значимо (более чем на 20%) повышало относительное количество погибших клеток аденокарциномы в сравнении со спленоцитами. Построение линий тренда (величина

линейной аппроксимации 0,96—0,99) при последовательном добавлении компонентов системы показало скорость прироста числа погибших опухолевых клеток 36% при 26% для иммунокомпетентных клеток.

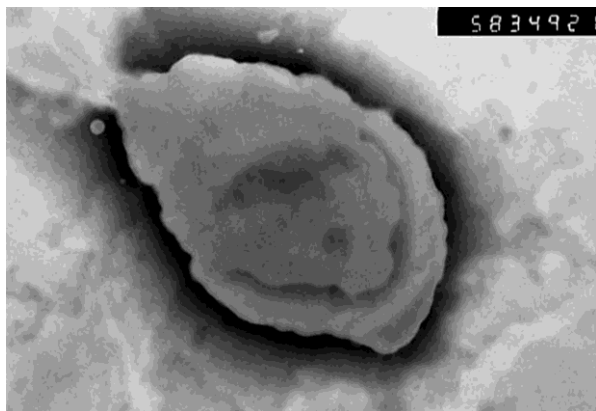


Рис. 1. Электронная микрофотография липидного композита цисплатина и наночастиц железа в углеродной оболочке. Ув. 58 000. Определяется первичное (ламеллярного типа) структурирование липидного композита

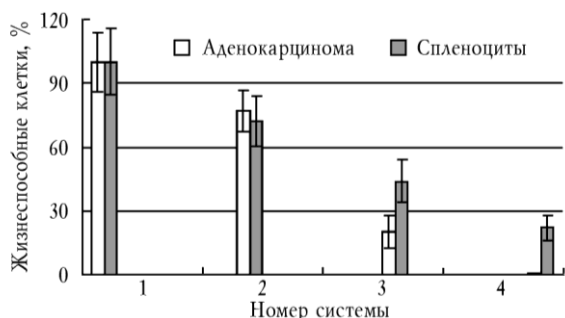


Рис. 2. Реакция клеток аденокарциномы Эрлиха и спленцитов мыши на 24-часовое культивирование с липидными композитами цисплатина и наночастиц железа в углеродной оболочке. По оси абсцисс — исследуемые системы: 1 — 0,9%-й раствор NaCl; 2 — 0,9%-й раствор NaCl и цисплатин; 3 — 0,9%-й раствор NaCl, фосфолипидный концентрат и цисплатин; 4 — 0,9%-й раствор NaCl, фосфолипидный концентрат, цисплатин и Fe(C). Доверительный интервал $p = 0,05$

Таким образом, *in vitro* выявлена относительная избирательность токсического действия изучаемых композитов в отношении опухолевых клеток. Конечная концентрация Fe(C), использованная в системе *in vitro* и *in vivo* (2 мг/кг массы тела), является низкой. Аналогичные дозы (менее 10—50 мг/л) магнетита Fe₃O₄ с частицами диаметром 30—47 нм, согласно сообщению S.M. Hussain и соавт. [20], не влияют *in vitro* на клеточную морфологию, функцию митохондрий, образование активных форм кислорода и систему глутатиона. В то же время, как было указано выше, наночастицы Fe(C) при меньшем диаметре (не более 10 нм) в реакции с кумолом также не индуцируют свободно-радикальные процессы, что исключает реализацию их эффекта через оксидативный стресс.

Большинство существующих в настоящее время методов лечения онкологических заболеваний (облучение, химиотерапия, массивные оперативные вмешательства) индуцируют иммуносупрессию [4], что ухудшает эффективность лечения и прогноз заболевания. В связи с этим актуален поиск терапевтических решений, направленных на сохранение иммунной системы. Одним из направлений считается регионарное применение цитостатических препаратов и биологических молекул, позволяющее создать необходимые локальные концентрации действующих веществ без системного токсического эффекта.

В системе *in vivo* внутриопухолевое введение цисплатина вызывало статистически значимое 2—3-кратное уменьшение размеров и массы подкожного узла аденокарциномы Эрлиха (табл. 2). На 80% увеличивалась лейкоцитарная инфильтрация, однако железистая структура опухолевого узла сохранялась (рис. 3). Она построена из резко атипичных железистых трубочек, имеющих различные размеры и форму.

Таблица 2

Морфологические показатели подкожного роста аденокарциномы Эрлиха после курсового введения препаратов ($X \pm m$)

| Группа (n = 10) | Диаметр опухоли, см | Относительная масса опухоли, % | ТРО, % по массе опухоли | ОМО, умноженная на площадь опухоли на срезе, % | Площадь опухолевой ткани на срезе, % | Площадь инфильтрата на срезе, % | Площадь соединительной ткани на срезе, % | Число клеток инородных тел на 1 мм ² |
|-----------------|-----------------------------|--------------------------------|-------------------------|--|--------------------------------------|---------------------------------|--|---|
| 1 | 2,44 ± 0,02 | 28,40 | 0 | 24,00 ± 1,70 | 83,00 ± 6,00 | 30,00 ± 3,00 | 0 | 96,58 ± 7,35 |
| 2 | 0,88 ± 0,06 $p_1 < 0,01$ | 8,40 $p_1 < 0,01$ | 78,00 $p_1 < 0,01$ | 7,20 ± 0,34 $p_1 < 0,01$ | 86,00 ± 4,00 | 54,00 ± 3,00 $p_1 < 0,01$ | 0 | 102,94 ± 10,52 |
| 3 | 2,36 ± 0,03 $p_2 < 0,01$ | 22,4 $p_2 < 0,01$ | 22,00 $p_2 < 0,01$ | 8,96 ± 0,67 $p_2 < 0,01$ | 40,00 ± 3,00 $p_2 < 0,01$ | 70,00 ± 3,00 $p_2 < 0,01$ | 0 | 311,74 ± 74,60 $p_2 < 0,01$ |
| 4 | 1,09 ± 0,05 $p_3 < 0,01$ | 6,70 $p_3 < 0,01$ | 81,00 $p_3 < 0,01$ | 2,21 ± 0,13 $p_3 < 0,01$ | 33 ± 2 | 13,00 ± 1,00 $p_3 < 0,01$ | 54 ± 2 $p_3 < 0,01$ | Единичные |

Примечание. *n* — число животных и срезов опухолевых узлов в каждой группе; *p*₁—*p*₃ — указаны достоверные различия с величинами в группе, имеющей соответствующий номер; номер группы соответствует номеру системы в табл. 1.

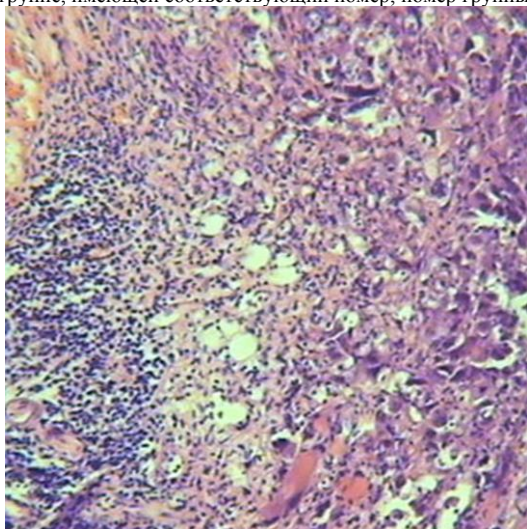


Рис. 3. Морфологическая структура опухолевого узла после введения цисплатина. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 150

Железы выстланы цилиндрическим эпителием, местами многорядным. В некоторых атипичных железистых структурах наблюдается напластование клеток. В клетках опухолевой ткани определяется резко выраженный клеточный атипизм.

Рост размеров и массы опухолевого узла может быть связан не только с основным процессом, но и с реакцией организма, приводящей к отеку, инфильтрации, некрозу и склерозу патологического очага. В частности, это характерно для мицеллярной формы цитостатика (рис. 4). Так, 3-я система по морфологическим индексам (размер, масса опухолевого узла, ТРО) ухудшала, по гистологическим (площадь опухолевой ткани) — усиливала противоопухолевое действие цисплатина.

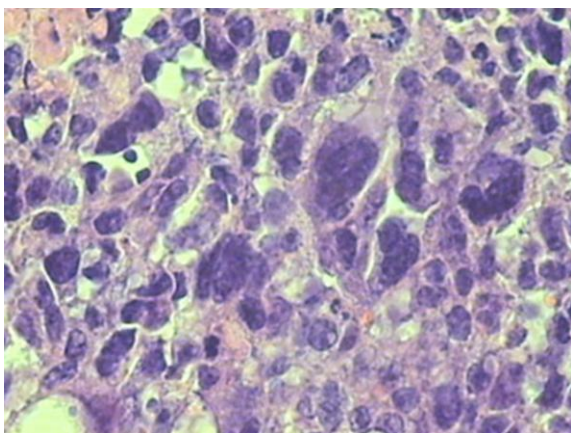


Рис. 4. Морфологическая структура опухолевого узла после введения липидной формы цисплатина. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 700

Показатели массы, размеров и ТРО опухоли не коррелировали с площадью опухолевой ткани, выявленной на срезах, что позволило перемножить их вероятности и ввести новый показатель эффективности исследуемых групп (ОМО, умноженная на площадь опухоли на срезе). При этом на срезах опухолевой ткани в 3 раза увеличивалось число гигантских клеток (табл. 2).

Обсуждение

В последние годы чаще стали встречаться публикации о том, что наряду с естественными киллерами, естественными киллерными Т-клетками и цитотоксическими лимфоцитами CD8 (ЦТЛ) важнейшими эффекторными противоопухолевыми элементами являются макрофаги и дендритные клетки (ДК) [26]. Их дисфункция при раке не вызывает сомнения [15].

Идет поиск оптимальных интервалов для введения ДК [27], их активации *in situ* [18]. Раковая иммуносупрессия, приводящая *in vivo* к гипо- и анергии ЦТЛ и нарушению миграции ДК в орган-мишень, обусловила идею внутриопухолевой доставки ДК [21]. Однако клиническая эффективность терапии была доказана только у 3 (19%) из 16 пациентов [30]. В итоге, по мнению O. Proudfoot и соавт., вакцинация ДК еще далека от терапевтического применения [28].

Эпителиоидные и гигантские многоядерные клетки инородных тел (ГМКИТ) являются активными участниками гранулематозного воспаления, тесно связанными с ДК, CD4-хелперами и фактором некроза опухоли (ФНО), с исходом в фиброз [17]. ФНО, наиболее эффективный противоопухолевый цитокин [2], способствует миграции моноцитов и образованию ГМКИТ [17, 34], которые, в свою очередь, секретируют ФНО в патологическом очаге [34], усиливают функции лимфоцитов и фибробластов [17]. Секреция ФНО и гранулематоз усиливаются тяжелыми металлами [29].

Описанные механизмы могут лежать в основе наиболее значительной противоопухолевой активности *in vivo* 4-й системы композитов, состоящих из мицеллярной формы цитостатика с наночастицами пироуглеродного железа. В сравнении с другими группами

наблюдения обращал на себя внимание факт более чем 50%-го фиброза опухолевого узла (табл. 2, рис. 5) при малом количестве инфильтрата и ГМКИТ на гистологических срезах.

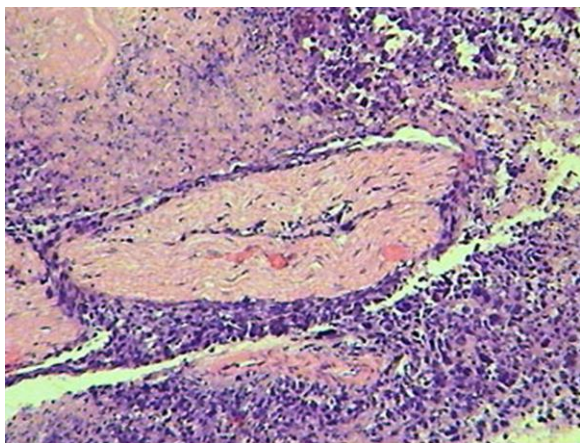


Рис. 5. Морфологическая структура опухолевого узла после введения липидного композита цисплатина и наночастиц железа в углеродной оболочке. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 150

Представленные результаты позволяют предположить ускорение созревания гранул при попадании наночастиц железа в углеродной оболочке в очаг воспаления. В сочетании с данными, полученными *in vitro*, механизм противоопухолевого эффекта ультрамелкодисперсных липидных композитов цисплатина и наноразмерного ферромагнетика в углеродной оболочке обусловлен, с одной стороны, прямым цитотоксическим действием на опухолевые клетки и, с другой стороны, стимуляцией клеток соединительной ткани. Предположительно, клетками-мишенями являются моноциты (макрофаги), которые способны активно захватывать липосомальные формы лекарственных веществ [7].

Диспропорция противоопухолевых (иммунотоксических) реакций при существующих классических и иммунобиотерапевтических схемах лечения сдерживает развитие современной онкологии. Например, результаты первой и второй фаз 32 клинических испытаний текущих методов иммунотерапии (аутологичные опухолевые клетки, пептидная вакцина, дендритные клетки, идиотипические антитела, вирусные вакцины и др.) у 527 пациентов с колоректальным раком, согласно критериям ВОЗ, показали их недостаточную специфическую активность. Гуморальный (клеточный) иммунный ответ отмечался в 59 (44%) случаях при стабилизации заболевания у 8,3% больных. Позитивный

клинический ответ (полный или частичный) на вакцинацию не превышал 1% случаев [24]. Требуется разработка и применение протоколов, направленных на кардинальное улучшение клинических результатов [23].

Заключение

Предложенный биотехнологический подход, использующий низкие дозы цитостатика и наноферромагнетика, может оказаться полезным в плане разработки магнитоуправляемых режимов для региональной иммунобиотерапии рака и его метастазов.

Исследование выполнено при поддержке федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007—2012 гг.» (государственный контракт № 02.512.11.2285 от 10.03.2009).

Литература

1. Бабицкая С.В., Жукова М.В., Кисель М.А. и др. Инкапсулирование доксорубина в липосомы, содержащие фосфатидилэтанолламин. Влияние на токсичность и накопление антибиотика в миокарде // Хим.-фармацевт. журн. 2006. № 3. С. 36—38.
2. Биологические методы лечения онкологических заболеваний: пер. с англ. / под ред. В.Т. де Вита, С. Хеллмана, С.А. Розенберга. М.: Медицина, 2002. 936 с.
3. Галанов А.И., Юрмазова Т.А., Савельев Г.Г. и др. Разработка магнитоуправляемой системы для доставки химиопрепаратов на основе наноразмерных частиц железа // Сиб. онкол. журн. 2008. № 3. С. 50—57.
4. Гарин А.М., Базин И.С. Злокачественные опухоли пищеварительной системы. М.: Инфомедиа Паблишерз, 2003. 264 с.
5. Генис Р. Биомембраны. Молекулярная структура и функции. М.: Мир, 1997. 622 с.
6. Исмаилова Г.К., Ефременко В.И., Курегян А.Г. Биотехнология получения магнитоуправляемых липосом // Хим.-фармацевт. журн. 2005. Т. 39, № 7. С. 47—49.
7. Каплун А.П., Ле Банг Шюан, Краснопольский Ю.М., Швец В.И. Липосомы и другие наночастицы как средство доставки лекарственных веществ // Вопр. мед. химии. 1999. № 1. С. 3—12.
8. Лысов В.Н., Мурзин Н.В. Проблемы безопасности нанотехнологий. М.: МИФИ, 2007. 70 с.
9. Моисеенко В.М. Биотерапия солидных опухолей // Вопросы онкологии. 1998. Т. 44, № 1. С. 120—127.
10. Моисеенко В.М., Балдуева И.А., Хансон К.И. Вакциноterapia злокачественных опухолей // Вопр. онкологии. 1999. Т. 45. № 3. С. 327—332.
11. Сергеев Г.Б. Нанохимия. М.: Изд-во МГУ, 2003. 287 с.
12. Толчева Е.Е., Оборотова Н.А. Липосомы как транспортное средство для доставки биологически активных молекул

- // Рос. биотерапевт. журн. 2006. № 1. Т. 5. С. 54—61.
13. Федуцак Т.А., Ермаков А.Е., Уймин М.А. и др. Физико-химические свойства нанопорошков меди, полученных методами электрического взрыва проводника и газозафазного синтеза // Журн. физ. химии. 2008. № 4. С. 708—712.
 14. Энциклопедия клинической онкологии / под ред. М.И. Давыдова. М., 2004. 1456 с.
 15. Aloysius M.M., Takhar A., Robins A., Eremin O. Dendritic cell biology, dysfunction and immunotherapy in gastrointestinal cancers // Surgeon. 2006. V. 4, № 4. P. 195—210.
 16. Babincova M., Cicmanec P., Altanerova V. et al. AC-magnetic field controlled drug release from magnetoliposomes: design of a method for site-specific chemotherapy // Bioelectrochemistry. 2002. V. 55, issue 1—2. P. 17—19.
 17. Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. 2nd edition / Ed. by B.D. Ratner et al. San Diego: Elsevier Academic Press, 2004. 851 p.
 18. Den Brok M.H., Nierkens S., Figdor C.G. et al. Dendritic cells: tools and targets for antitumor vaccination // Expert Rev. Vaccines. 2005. V. 4, № 5. P. 699—710.
 19. Grass R.N., Athanassiou E.K., Stark W.J. Covalently Functionalized Cobalt Nanoparticles as a Platform for Magnetic Separations in Organic Synthesis // Angew. Chem. 2007. V. 46. P. 4909—4912.
 20. Hussain S.M., Hess K.L., Gearhart J.M. et al. *In vitro* toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells // Toxicol. *in vitro*. 2005. V. 19, № 7. P. 975—83.
 21. Kanazawa M., Yoshihara K., Abel H. et al. Two case reports on intra-tumor injection therapy of dendritic cells // Gan. To Kagaki Ryoho. 2005. V. 32, № 11. P. 1571—1573.
 22. Maeda H., Wu J., Sawa T. et al. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review // J. Control. Release. 2000. V. 65. P. 271—284.
 23. Marshall J.L. Novel vaccines for the treatment of gastrointestinal cancers // Oncology. 2005. V. 19. P. 1557—1565.
 24. Nagorsen D., Thiel E. Clinical and immunologic responses to active specific cancer vaccines in human colorectal cancer // Clin. Cancer Res. 2006. V. 12, № 10. P. 3064—3069.
 25. Oberdorster G., Oberdorster E., Oberdorster J. Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles // Environ Health Perspect. 2005. V. 113, № 7. P. 823—839.
 26. Oosterling S.J., van der Bij G.J., Mels A.K. et al. Perioperative IFN-alpha to avoid surgically induced immune suppression in colorectal cancer patients // Histol. Histopathol. 2006. V. 21, № 7. P. 753—760.
 27. Park M.Y., Kim C.H., Sohn H.J. et al. The optimal interval for dendritic cell vaccination following adoptive T cell transfer is important for boosting potent anti-tumor immunity // Vaccine. 2007. V. 25, № 42. P. 7322—7330.
 28. Proudfoot O., Pouniots D., Sheng K.C. et al. Dendritic cell vaccination // Expert Rev. Vaccines. 2007. V. 6, № 4. P. 617—633.
 29. Rolfe M.W., Paine R., Davenport R.B., Strieter R.M. Hard metal pneumoconiosis and the association of tumor necrosis factor-alpha // Am. Rev. Respir. Dis. 1992. V. 146, № 6. P. 1600—1602.
 30. Takeda T., Makita K., Okita K. et al. Intratumoral injection of immature dendritic cells (DC) for cancer patients // Gan. To Kagaki Ryoho. 2005. V. 32, № 11. P. 1574—1575.
 31. Torchilin V.P. Targeted pharmaceutical nanocarriers for cancer therapy and imaging // The AAPS Journal. 2007. V. 9, № 2. P. 15.
 32. Vogiatzi P., Cassone M., Claudio P.P. Personalizing gene therapy in gastric cancer // Drug News Perspect. 2006. V. 19, № 9. P. 533—540.
 33. Wang J., Mongayt D., Torchilin V.P. Polymeric micelles for delivery of poorly soluble drugs: preparation and anticancer activity *in vitro* of paclitaxel incorporated into mixed micelles based on poly(ethylene glycol)-lipid conjugate and positively charged lipids // J. Drug. Target. 2005. V. 13. P. 73—80.
 34. Yanagishita T., Watanabe D., Akita Y. et al. Construction of novel *in vitro* epithelioid cell granuloma model from mouse macrophage cell line // Arch Dermatol Res. 2007. V. 299, № 8. P. 399—403.

Поступила в редакцию 12.05.2009 г.

Утверждена к печати 22.12.2009 г.

Сведения об авторах

С.А. Антипов — канд. мед. наук, докторант кафедры госпитальной хирургии СибГМУ (г. Томск).

Т.А. Федуцак — канд. хим. наук, научный сотрудник лаборатории каталитических превращений легких углеводородов нефти Института химии нефти СО РАН (г. Томск).

О.В. Кокорев — канд. мед. наук, зав. лабораторией клеточных технологий НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы при ТГУ (г. Томск).

Е.А. Геренг — канд. мед. наук, доцент кафедры морфологии и общей патологии СибГМУ (г. Томск).

Г.Ц. Дамбаев — д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАМН, зав. кафедрой госпитальной хирургии СибГМУ (г. Томск).

А.Е. Ермаков — д-р физ.-мат. наук, профессор, зав. лабораторией прикладного магнетизма Института физики металлов УрО РАН (г. Екатеринбург).

М.А. Уймин — канд. физ.-мат. наук, старший научный сотрудник лаборатории прикладного магнетизма Института физики металлов УрО РАН (г. Екатеринбург).

И.А. Хлусов — д-р мед. наук, профессор кафедры морфологии и общей патологии СибГМУ (г. Томск).

Для корреспонденции

Хлусов Игорь Альбертович, тел. 8-913-823-39-62, e-mail: kh1@ultranet.tomsk.ru