

АПРОБАЦИЯ ПЛАЗМОННО-РЕЗОНАНСНОЙ ФОТОТЕРМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТОВ IN VIVO (ОБЗОР)

Д. С. Чумаков — ФГБОУ ВПО СГУ им. Н. Г. Чернышевского, кафедра биохимии и биофизики, аспирант; **М. В. Баско** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, кафедра факультетской хирургии и онкологии, аспирант; **Н. И. Дихт** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, кафедра эндокринологии, ассистент, кандидат медицинских наук; **А. Б. Бучарская** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, руководитель научно-образовательного центра фундаментальной медицины и нанотехнологий, кандидат биологических наук; **Т. И. Родионова** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, заведующая кафедрой эндокринологии, профессор, доктор медицинских наук; **Г. С. Терентюк** — ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В. И. Разумовского Минздрава России, научно-образовательный центр фундаментальной медицины и нанотехнологий, научный сотрудник, профессор, доктор биологических наук.

APPROBATION OF PLASMON PHOTOTHERMAL CANCER THERAPY IN EXPERIMENTS IN VIVO (REVIEW)

D. S. Chumakov — Saratov State University n.a. N. G. Chernyshevsky, Department of Biochemistry and Biophysics, Post-graduate; **M. V. Basko** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Surgery and Oncology, Post-graduate; **N. I. Dikht** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Department of Endocrinology, Assistant, Candidate of Medical Science; **A. B. Bucharskaya** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Head of Scientific Educational Centre of Fundamental Medicine and Nanotechnologies, Candidate of Biological Science; **T. I. Rodionova** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Head of Department of Endocrinology, Professor, Doctor of Medical Science; **G. S. Terentyuk** — Saratov State Medical University n.a. V. I. Razumovsky, Scientific Educational Centre of Fundamental Medicine and Nanotechnologies, Research Assistant, Professor, Doctor of Biological Science.

Дата поступления — 17.09.2013 г.

Дата принятия в печать — 25.11.2013 г.

Чумаков Д. С., Баско М. В., Дихт Н. И., Бучарская А. Б., Родионова Т. И., Терентюк Г. С. Апробация плазмонно-резонансной фототермической терапии злокачественных опухолей в условиях экспериментов in vivo (обзор) // Саратовский научно-медицинский журнал. 2013. Т. 9, № 4. С. 700–706.

Лазерная термотерапия все чаще используется в клинической практике для лечения злокачественных новообразований. Ее существенное ограничение, связанное с низкой пространственной селективностью, может быть частично преодолено за счет использования плазмонно-резонансных золотых наночастиц в качестве фототермосенсибилизаторов. Пластичность синтеза, уникальные оптические свойства и низкая токсичность делают золотые наноструктуры перспективными противоопухолевыми агентами. В обзоре рассматривается обширный экспериментальный материал, касающийся апробации плазмонно-резонансной фототермической терапии на экспериментальных животных с привитыми и индуцированными опухолями. Результаты проведенных исследований позволяют прогнозировать возможность внедрения данной терапевтической технологии в клиническую практику.

Ключевые слова: лазерный фототермолиз, золотые наночастицы, противоопухолевая терапия.

Chumakov D. S., Basko M. V., Dikht N. I., Bucharskaya A. B., Rodionova T. I., Terentyuk G. S. Approbation of plasmon photothermal cancer therapy in experiments in vivo (review) // Saratov Journal of Medical Scientific Research. 2013. Vol. 9, № 4. P. 700–706.

Laser thermal therapy is increasingly being used in clinical practice for cancer treatment. Its major limitation is associated with low spatial selectivity. This restriction may be excluded by the use of plasmon-resonant gold nanoparticles as photothermal sensitizers. Tunable synthesis, unique optical properties and low toxicity make gold nanostructures promising as a therapeutic agent for cancer treatment. The research work has presented the experimental data that concern the use of plasmon photothermal therapy for the treatment of transplanted and induced tumors of laboratory animals. Taking into consideration the research results it is determined that the transition of this therapeutic technology into the clinical practice can be predicted.

Key words: laser photothermolysis, gold nanoparticles, cancer therapy.

Современные технологии лазерной гипертермии, используемые в качестве противоопухолевой терапии, имеют существенный недостаток, который заключается в их низкой пространственной селективности нагрева, затрагивающего как опухолевые, так и окружающие здоровые ткани [1]. Одним из способов повышения селективности лазерного нагрева является фототермосенсибилизация опухолевых

тканей золотыми наночастицами различной формы и структуры: золотыми наносферами [2–4] наноболочками [5–7], наностержнями [8–10], наноклетками [11] и другими разновидностями [12]. Контроль за соотношением эффективностей поглощения и рассеяния частицами, а также спектральная настройка плазмонного резонанса отдельных частиц на желаемую длину волны достигаются за счет синтеза наноструктур с различными параметрами [13, 14]. При их облучении лазером с длиной волны, близкой к плазмонной полосе поглощения, можно осуществить

Ответственный автор — Терентюк Георгий Сергеевич
Адрес: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 98
Тел: 88452461302
E-mail: vetklinika@front.ru

термолиз только клеток, меченных наночастицами. При этом окружающие здоровые ткани остаются неповрежденными [15, 16]. Подобная технология была разработана в последнее десятилетие и получила название плазмонно-резонансной фототермической терапии (ПРФТТ) [17]. В опубликованных на эту тему работах сообщается о возможности спектральной настройки плазмонного резонанса наночастиц в «терапевтическое окно прозрачности» (750–1100 нм) и достижении приемлемого соотношения между их эффективностью поглощения и рассеяния [18–20]. Практически во всех работах, посвященных экспериментальной апробации ПРФТТ, использовались полупроводниковые лазеры с длиной волны порядка 805–810 нм.

Селективное накопление наночастиц в биологической мишени может быть достигнуто путем как пассивной, так и активной доставки. В первом случае немодифицированные наночастицы могут накапливаться в биологической мишени за счет размерного EPR-эффекта [21,22]. Дополнительная поверхностная модификация золотых наночастиц полиэтиленгликолем (ПЭГ) препятствует их агрегации и повышает стабильность в условиях циркуляции в кровотоке [23]. Второй («активный») подход заключается в модификации поверхности наночастиц биологическими зондами, способными специфически связываться с определенными молекулярными мишенями на мембранах опухолевых клеток. Процедура присоединения молекул к поверхности частицы называется «функционализацией», а термин «конъюгат» обычно используется для обозначения функционализированных частиц [24]. До лазерной терапии на поверхность опухоли могут быть апплицированы иммерсионные агенты, выравнивающие показатели преломления (в том числе ПЭГ) и снижающие интенсивность обратного рассеяния света верхними слоями кожи [25].

Сенсибилизированный золотыми наночастицами фототермолиз выглядит перспективной стратегией противоопухолевой терапии. Тем не менее некоторые проблемы и вопросы, связанные с данным подходом пока далеко от своего разрешения. В их числе: оптимизация размера и формы золотых наночастиц режима лазерного воздействия, способа введения наночастиц в организм, а также валидация методов оценки накопления наночастиц в опухоли, исследование биологических эффектов фототермического воздействия и потенциальной токсичности золотых наноструктур.

Биологические эффекты термической терапии. Гипертермия приводит к множественным повреждениям на клеточном уровне. В частности, нагрев способствует разрыву водородных и ионных связей в белковых структурах, что приводит к изменению их пространственной структуры [26]. Характер нарушения пространственной структуры белков при нагреве сильно зависит от значения pH. Опухолевые ткани по сравнению с нормальными характеризуются более кислой средой. Причиной ацидоза является недостаточное кровоснабжение опухолей и протекающий в них интенсивный анаэробный гликолиз, в результате которого образуется молочная кислота. Низкое значение pH в микроокружении опухоли обычно ассоциировано с повышенной термочувствительностью злокачественных клеток [27]. На примере многих клеточных линий было показано, что гипертермия приводит к нарушению функционирования мембранных белков, которые в норме выполняют стабили-

зирующую [28], транспортную [29] и рецепторную [30] функции. Повреждение мембранных белковых структур непосредственно связано с гибелью клеток. Помимо этого, реализация гипертермии приводит к ингибированию синтеза биополимеров: белков, ДНК и РНК, причем степень ингибирования находится в непосредственной зависимости от степени температурного приращения [31]. Также было отмечено, что гипертермия приводит к нарушению функционирования различных цитоскелетных структур [32]. В зависимости от интенсивности нагрева указанные молекулярные повреждения могут репарироваться или же приводить к некрозу клетки. Некроз представляет собой процесс деградации клеточных структур, развивающийся при отмирании клеток и тканей и высвобождении литических ферментов из них и клеток воспалительного инфильтрата мобилизованных из кровеносного русла. Часть клеток при гипертермии гибнет вследствие апоптоза, который представляет собой механизм гибели клеток, с помощью которого осуществляется их физиологическая элиминация из организма [33]. В отличие от некротизируемых структур, клетки, гибнущие вследствие апоптоза, не вызывают воспалительную реакцию. Наиболее основательная микроскопическая оценка тканевых повреждений при гипертермии может быть дана не ранее чем через 24–72 часа после терапевтического воздействия [34].

ПРФТТ экспериментальных моделей рака у животных с использованием золотых наносфер. Наносферы являются наиболее просто организованной разновидностью золотых наночастиц. Несмотря на достаточно простую процедуру синтеза, использование этих структур для фототермолиза опухолей ограничено. Это ограничение связано с возможностью настройки плазмонно-резонансного поглощения наносфер исключительно на видимую область спектра, в которой биоткани характеризуются наименьшим пропусканием [35]. Таким образом, использование данного вида наночастиц может быть оправдано лишь для опухолей поверхностной локализации: различных новообразований кожи и слизистой.

В частности, сенсибилизированная золотыми наносферами фототермическая терапия была апробирована в работе Elbially и соавторов [2]. Для терапии привитых мышам карцином Эрлиха авторы использовали золотые наносферы, плазмонно-резонансное поглощение которых было настроено на длину волны 518 нм. Облучение осуществлялось аргоновым лазером, излучающим в зеленом диапазоне. При этом плотность мощности лазера составила 55 мВт/см², а длительность облучения — 45 минут. У облученных животных имело место торможение роста опухолей. Также методом широкополосного рассеяния рентгеновских лучей была произведена оценка состояния белковых структур в облученных опухолевых тканях и отмечено их значительное повреждение.

В недавней публикации сообщается об использовании золотых наносфер диаметром 30 нм и пиком резонансного поглощения на 529 нм для фототермолиза карциномы защечного мешка у сирийских хомячков. Данная опухоль была индуцирована 7,12-диметилбензантраценом. Выбор подобной модели был обусловлен тем, что данная опухоль по поведению, экспрессии онкомаркеров и морфологии напоминает человеческую плоскоклеточную карциному полости рта. В данной работе было реализовано интратуморальное введение суспензии наночастиц в дозировке 10 мкг/г золота. Облучение осуществлялось в тече-

ние 15 минут лазером видимого диапазона с длиной волны 532 нм и плотностью мощности 150 мВт. Температурное приращение для облучаемой при таких параметрах опухоли составило $6,9 \pm 1^\circ\text{C}$. Для группы животных с опухолями, у которых была реализована ПРФТТ, отмечалось снижение объема опухоли после лазерного воздействия на 83% по сравнению с первоначальным. Среднее время выживаемости для этой группы составило в среднем $6,1 \pm 0,99$ недели, что на 4 недели больше, чем для группы хомяков с опухолями, которых не подвергали никаким воздействиям. Проведенные гистохимические исследования также свидетельствовали о значительном повреждении опухолевой ткани на клеточном уровне. Так, при реализации фототермолиза с наносферами в клетках опухоли отмечалось значительное снижение уровня экспрессии PCNA-ядерного антигена пролиферации, который является индикатором интенсивности синтеза молекул ДНК. По данным трансмиссионной электронной микроскопии, у животных с реализованной ПРФТТ в опухолевых тканях были также идентифицированы морфологические признаки апоптоза: сморщенные ядра, разрыв ядерной мембраны, конденсация хроматина, пузырение поверхности клетки и т.д. [3].

Терапевтическая эффективность ПРФТТ и ее механизмы зависят в том числе и от параметров излучения. При использовании непрерывных лазеров основное повреждение опухолевых клеток и тканей связано с нагревом. Применение лазерных импульсов определенной длительности позволяет добиться фотоиндуцированного взрыва золотых наносфер. При этом значение имеет не только нагрев, но и давление, создаваемое водяным паром и паром расплавленного золота, что сопровождается кавитационными воздействиями и образованием ударных волн [35]. Таким образом, повреждение клеточных структур в данном случае связано преимущественно с механическим воздействием. Лазерные импульсы индуцируют образование распространяющихся плазмонных нанопузырьков, которые разрушают цитоскелетные структуры клетки и плазматическую мембрану [4]. В работе Lukianova-Nleb и соавторов технология генерации плазмонных нанопузырьков использовалась для повышения глубины проникновения липосомальной формы доксорубина в привитые мышам человеческие плоскоклеточные карциномы головы и шеи. Для образования нанопузырьков полые золотые наносферы облучались лазером с длиной волны 780 нм и длительностью импульса 70 пс. Отмечалось практически десятикратное повышение терапевтической эффективности в случае сочетания импульсного лазерного воздействия в присутствии золотых наносфер и химиотерапии по сравнению с реализацией исключительно химиотерапии [36].

ПРФТТ экспериментальных моделей рака у животных с использованием золотых наноболочек. Золотые наноболочки принадлежат к перспективному классу наночастиц с управляемыми оптическими свойствами. Они состоят из диэлектрического ядра, покрытого тонкой металлической (золотой) оболочкой. Возможности их поверхностной функционализации и достижения определенного соотношения диаметра ядра и толщины оболочки позволяют создавать наночастицы, эффективно поглощающие и рассеивающие свет в видимом и инфракрасном диапазонах, и использовать их для селективного мечения опухолевых клеток [6].

Плазмонно-резонансная фототермическая терапия с использованием наноболочек впервые была

реализована для мышей с привитыми подкожно опухолями. В опухоли экспериментальной группы животных непосредственно вводили модифицированные полиэтиленгликолем золотые наноболочки под контролем МРТ. В контрольные опухоли интра-туморально вводили раствор хлорида натрия. Далее опухоли подвергались облучению лазером ближнего ИК-диапазона, причем по мере облучения и после выключения лазера осуществлялся неинвазивный мониторинг температуры как опухолевой ткани, так и прилегающих к ней здоровых. После облучения мыши были подвергнуты эвтаназии, а образцы опухолевых тканей забраны для гистологического исследования. Для облученных опухолей с предварительно введенными золотыми наночастицами отмечались обширные некротические повреждения тканей преимущественно в тех участках, на которые воздействовал лазер. Оценка температурного профиля опухолевой ткани осуществлялась во время облучения и в течение некоторого времени после выключения лазера методом магнитно-резонансной термометрии. Анализ термограмм выявил, что температура злокачественного новообразования за 4–6 минут лазерного воздействия поднималась на $37,4 \pm 6,6^\circ\text{C}$. Подобное приращение вызывает необратимые тканевые повреждения. Изменение температуры у опухолей контрольной группы животных, которым не вводили наноболочки, было не столь значительным и составило $9,1 \pm 4,7^\circ\text{C}$. Такой нагрев не вызывает интенсивную гибель клеток [5].

Позже этими же авторами было проведено исследование с целью оценки эффективности и времени дожития животных при реализации данной терапии. Осуществлялся мониторинг опухолевого роста и регрессии на протяжении 90 дней. Опухоли прививались мышам подкожно, а золотые наноболочки вводились внутривенно. Достаточное для реализации фототермической терапии накопление в опухоли препарата наночастиц достигалось через 6 часов. Облучение осуществлялось в течение 3 минут полупроводниковым лазером ближнего ИК-диапазона с длиной волны 808 нм и плотностью мощности 4 Вт/см². Для группы мнимого воздействия была реализована лазерная терапия при таких же параметрах облучения, однако им вместо суспензии наночастиц внутривенно вводили раствор хлорида натрия. Животных контрольной группы не подвергали никаким воздействиям. В течение первых 10 дней после экспериментальных манипуляций степень изменения объема новообразования для трех групп животных очень сильно варьировала. Для экспериментальной группы мышей, которым внутривенно вводили золотые наноболочки, к десятому дню отмечалась 100% резорбция опухоли, причем такой результат сохранился до конца исследования. В контрольной группе и группе мнимого воздействия объем опухоли за две недели увеличился вдвое, составив более 5% от массы тела. Животные этих групп были подвергнуты эвтаназии. Среднее время дожития для животных экспериментальной группы составило более 60 дней, а для контрольной и группы мнимого воздействия 10,1 и 12,5 дней соответственно [37].

В одной из недавних работ был реализован фототермолиз ксенотрансплантатной модели человеческого колоректального рака линии НСТ116, привитого подкожно безтимусным мышам. Животным внутривенно вводили 100 мкл суспензии покрытых ПЭГ золотых наноболочек или аналогичный объем раствора, содержащий наноболочки, функционали-

зованные RGD-трипептидом. Параметры лазерного облучения были подобраны таким образом, чтобы обеспечить достижение опухолью гипертермических температур. Согласно моделированию, поддержание температуры 47°C в течение 10 минут приведет к уничтожению 50% злокачественных клеток. Для группы животных, которым вводили наноболочки без адресных молекул на поверхности, был реализован следующий режим лазерной терапии. Использовался лазер ближнего ИК диапазона с длиной волны 808 нм, выходной мощностью 1,2 Вт, 75%-ным рабочим циклом и диаметром лазерного пятна, равным 1 см. Через 5 минут облучения центральные области опухоли были нагреты до 47°C. Эта температура далее поддерживалась на протяжении 5 минут. Реализация режима гипертермии для группы мышей с введенными функционализированными RGD-трипептидом наноболочками приводила к более выраженным некротическим изменениям в опухоли по сравнению с упомянутой группой, из чего можно сделать вывод, что модифицированные адресными молекулами золотые наночастицы являются более эффективными термосенсибилизаторами. При терапии животных с введенными адресными наночастицами отмечались более глубокие кровоизлияния в опухолевой ткани. Значительные некротические и геморрагические повреждения затрагивали центральные области новообразования. Для группы животных с введенными адресными наночастицами также отмечалось интенсивное повреждение опухолевых сосудов. Таким образом, результаты данного исследования подчеркивают, что использование стратегии активной доставки позволяет существенно повысить эффективность фототермической терапии опухолей [38].

Шварцем и соавторами недавно проведено исследование, в котором ими была продемонстрирована возможность пассивной доставки наноболочек в ортотопическую опухоль, привитую в мозг собакам трансмиссивную венерическую саркому. Фрагменты опухоли выращивались у мышей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом, после чего она прививалась в теменную долю мозга собакам смешанной породы с иммуносупрессией. Данные опухоли служили прообразом метастатических новообразований головного мозга. Животным внутривенно вводили 150 нм золотые наноболочки. Накопление наночастиц в интракраниальных опухолях достигалось в течение нескольких часов. Достаточно эффективное задержание наночастиц в ткани опухоли свидетельствовало о том, что образуемая трансмиссивной венерической саркомой сосудистая сеть характеризуется гораздо большей проницаемостью, чем гематоэнцефалический барьер. Лазерный термолиз новообразования был осуществлен при помощи чрескожного оптоволоконного световода ближнего ИК диапазона с длиной волны 808 нм, выходная мощность излучения составила 3,5 Вт. За 3 минуты, на протяжении которых осуществлялось облучение, температура опухоли достигла значения $65,8 \pm 4,1^\circ\text{C}$. Аналогичный терапевтический протокол был реализован для лазерного воздействия на белое и серое вещество противоположной стороны головного мозга. Облучение здоровых тканей привело к достижению ими сублетальной температуры $48,6 \pm 1,1^\circ\text{C}$. Параметры облучения были подобраны таким образом, чтобы минимизировать термические повреждения нормальных тканей и компенсировать случайный характер распределения золотых наноболочек в опухоли. Посмертные гистологические

исследования здоровых и патологических тканей мозга, подвергшихся воздействию, подтвердили эффективность и селективность сенсibilизированного наноболочками фототермолиза [39].

ПРФТТ экспериментальных моделей рака у животных с использованием золотых наностержней. Основательное исследование, посвященное реализации ПРФТТ опухолей с использованием золотых наностержней в условиях *in vivo*, было проведено Maltzahn и соавторами [40]. В нем отмечается полноценная лазерная деструкция ксенотрансплантатных моделей человеческой опухоли, привитых мышам при однократном внутривенном введении в организм животных модифицированных полиэтиленгликолем золотых наностержней. В данном исследовании, в частности, проверялась гипотеза о возможности достижения эффективного термолиза опухолевой ткани при однократном введении покрытых ПЭГ золотых наностержней и использовании теоретически рассчитанных параметров лазерного излучения для терапии. В работе использовались безтимусные мыши с привитым человеческим раком молочной железы линии MDA-MB-435. Различным группам животных внутривенно вводили суспензию золотых наностержней или раствор хлорида натрия. Через несколько часов после введения золотых наночастиц область правой лопатки у мышей подвергали лазерной терапии в течение 5 минут. Длина волны лазера составляла 810 нм, а плотность мощности излучения — порядка 2 Вт/см². Через определенные промежутки времени после терапии осуществлялся мониторинг опухолевого роста. С целью полноценной оценки выживаемости животные были разделены на 4 группы. Животным экспериментальной группы вводили внутривенно золотые наностержни, после чего облучали. Животным первой контрольной группы вводили суспензию наночастиц без последующего облучения. Мышам второй контрольной группы внутривенно вводили физиологический раствор с последующим облучением. Для животных третьей контрольной группы было реализовано только внутривенное введение физиологического раствора. Для всех групп осуществлялся мониторинг опухолевого роста после воздействия. Через 10 дней после облучения у мышей, для которых была реализована фототермическая терапия с использованием покрытых ПЭГ золотых наностержней, не обнаруживались признаки наличия опухоли. Через 20 дней после воздействия у животных экспериментальной группы на месте опухоли детектировался небольшой рубец. У животных с введенными наночастицами и последующим облучением не регистрировалось снижение веса как при реализации фототермической терапии, так и после нее. Оценка гематологических параметров выявила незначительное, но статистически достоверное повышение содержания в крови у подвергшихся фототермолизу животных палочкоядерных нейтрофилов.

В проведенном нами исследовании исследовались фототермические эффекты, проявляемые золотыми наностержнями, накопленными в результате внутривенного введения в привитых мышам опухолевых тканях карциномы Эрлиха. Наностержни имели осевое соотношение, равное 4, а их продольный поверхностный резонанс был настроен на ближнюю инфракрасную область (810 нм). Животные были поделены на две экспериментальные группы. Мышам первой экспериментальной группы в хвостовую вену вводили 0,4 мл суспензии наночастиц с оптической плотностью 5. Животным второй эксперименталь-

ной группой вводили аналогичный объем суспензии с оптической плотностью 20. Через день после внутривенного введения наностержней осуществлялся лазерный нагрев опухолевой ткани и симметрично расположенного здорового участка. Объем новообразования, подвергнувшегося терапии, составлял 1,7–2,3 см³. Облучение осуществлялось на протяжении 5 минут полупроводниковым лазером ближнего ИК диапазона с длиной волны 810 нм. Плотность мощности лазерного излучения составила 4 Вт/см². Нагрев опухолевых тканей, не содержащих наночастицы, практически не отличался по характеру от нагрева здоровых тканей. При лазерном облучении здоровых тканей животных, которым внутривенно вводили наночастицы, максимальные температуры превышали контрольные значения на 5–7°C. Основное температурное приращение при облучении опухолевых тканей с наночастицами достигалось за первые 100 секунд нагрева, после чего его темп снижался. По данным атомно-абсорбционной спектроскопии, через день после внутривенного введения концентрация покрытых ПЭГ золотых наностержней в опухоли в 3–4 раза превышала содержание наночастиц в мышечной ткани. Интересно отметить, что при одинаковой концентрации наночастиц в опухоли и водной суспензии для ткани отмечался более интенсивный нагрев. Это может быть связано с различием термофизических свойств воды и ткани, образованием вследствие агрегации нагреваемых более эффективно конгломератов наночастиц в опухоли, а также перераспределением лазерного излучения в тканях вследствие множественного рассеяния [41].

ПРФТТ экспериментальных моделей рака у животных с использованием золотых наноклеток. Золотые наноклетки представляют собой более сложную и совершенную разновидность наночастиц. Основная их особенность заключается в полостной структуре и наличии пор. Данные наночастицы могут быть использованы как для фототермолиза опухолевых тканей, так и для инкапсуляции противоопухолевых лекарственных препаратов с последующей доставкой к злокачественным клеткам. Впрочем, подобная инкапсуляция сопряжена с определенными трудностями [11].

Плазмонно-резонансная фототермическая терапия, основанная на использовании золотых наноклеток, была апробирована на мышах с привитыми билатеральными человеческими глиомами линии U87. В исследовании использовались покрытые ПЭГ золотые наноклетки диаметром 92 нм. Небольшая плотность мощности лазера (0,7 Вт/см²) компенсировалась достаточно высокой дозой золотых наночастиц, вводимых внутривенно. Концентрация золота в вводимой суспензии составила 10 мг/мл. По мере облучения также осуществлялся неизвзивный мониторинг температуры опухолевой ткани при помощи ИК-термометрии. Для экспериментальной группы животных, у которых введение золотых наноклеток сочеталось с облучением лазером, максимальная температура поверхности опухоли при нагреве составила в среднем 54°C. Проведенные патоморфологические исследования также выявили некроз опухолевой ткани с накопленными золотыми наноклетками при условии ее облучения лазером. Некротизация затрагивала примерно 66% от всего объема новообразования. Были детектированы такие тканевые повреждения, как пикноз, цитоплазматическая ацидофилия, кариолизис и деградация внеклеточного матрикса опухоли. Для оценки характера изменения метабо-

лизма опухоли после реализации фототермической терапии авторы использовали метод позитронно-эмиссионной томографии с ¹⁸F-фтордезоксиглюкозой (ПЭТ с ¹⁸F-ФДГ). У группы животных с введенными наноклетками через сутки после облучения лазером, по данным ПЭТ, отмечалось значительное снижение потребления опухолью ¹⁸F-ФДГ. Доза потребления ¹⁸F-ФДГ на грамм ткани опухоли снизилась на 70% по сравнению со значением, зарегистрированным до терапевтического воздействия [42].

Клинический потенциал фототермической терапии. Лазерная термотерапия уже заняла определенную нишу в онкологической практике. Существуют определенные показания и противопоказания к селективной лазерной гипертермии опухолей.

Показаниями являются: наличие местно-распространенных новообразований наружных локализаций, не подлежащих хирургическому вмешательству, наличие рецидивов или метастазов одиночного и множественного характера, наличие перифокального воспаления при новообразованиях кожи, необходимость реканализации просвета пищевода и транхеобронхиального дерева. К противопоказаниям относятся ослабленное состояние больных, опасность кровотечения, а также большие размеры новообразования, при которых невозможно обеспечить значительный и равномерный прогрев всей массы опухоли [43].

Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США было лицензировано проведение в 2011 г. пилотного клинического исследования компанией Nanospectra Bioscience, посвященного оценке эффективности терапии препаратом AugoLase пациентов с плохо поддающимися лечению и рецидивирующими опухолями головы и шеи. В рамках исследования было выделено 3 группы лечения, состояние пациентов каждой из которых должно было оцениваться на протяжении 6 месяцев после терапии. Пациентам каждой группы должны были вводиться золотые наноболочки в определенной дозировке, после чего назначались один или несколько сеансов внутритканевого облучения лазером с длиной волны 808 нм. Дозировка наночастиц и мощность лазерного излучения при необходимости могли быть увеличены в каждой группе.

Основными критериями включения в данное исследование являлись: наличие у пациентов одной или нескольких резистентных к терапии и (или) рецидивирующих опухолей головы и шеи, доступность опухоли для диагностики методами фиброоптической назофарингоскопии или ларингоскопии, достаточный объем новообразования, позволяющий забрать на биопсию примерно 6 мг опухолевой ткани для проведения нейтронно-активационного анализа [44].

Заключение. За последние 15 лет работы в области наноонкологии вышли на новый качественный уровень. Значительная доля публикаций в этой области посвящены использованию золотых наночастиц для лазерной гипертермии злокачественных опухолей. Уникальные плазмонно-резонансные свойства и высокая биосовместимость данных наноструктур делают их привлекательными терапевтическими агентами. Совершенствование данной терапевтической технологии осуществляется в нескольких направлениях. Целью ряда публикаций является разработка эффективной стратегии доставки наночастиц к опухолевой ткани, что может быть достигнуто с помощью функционализации их поверхности различными адресными молекулами. Немаловажным также является вопрос, связанный с оптимизацией пара-

метров внешнего и внутритканевого лазерного облучения. Проведены исследования, в которых показано, что взаимодействие ультракоротких лазерных импульсов с биологическими тканями, содержащими золотые наночастицы, может приводить к их нетермическому повреждению. При проведении данной терапии необходимо учитывать оптические и морфологические свойства опухоли, а также особенности взаимодействия лазерного излучения с золотыми наночастицами. Эффективность плазмонно-резонансной фототермической терапии была доказана в многочисленных экспериментах на животных, в которых наблюдались снижение темпа опухолевого роста, уменьшение размеров новообразования, а иногда и его полная резорбция. Есть также свидетельства, что локальная лазерная гипертермия может индуцировать иммунный ответ. Безусловно, необходимы дальнейшие исследования лазерной гипертермии, касающиеся ее использования как монотерапии и в сочетании с химиотерапией, радиотерапией, иммунотерапией и фотодинамической терапией. В настоящее время эти исследования находятся в состоянии перехода от доклинической к клинической стадии.

Библиографический список

1. Thermal therapy. Part 3: Ablation / R. Habash [et al.] // *Critical Rev. Biomed. Eng.* 2007. № 1. P. 37–121.
2. Elbially N., Abdelhamid M., Youssef T. Low power argon laser-induced thermal therapy for subcutaneous Ehrlich carcinoma in mice using spherical gold nanoparticles // *J. Biomed. Nanotechnol.* 2010. № 6. P. 687–693.
3. Therapeutic efficacy of plasmonic photothermal nanoparticles in hamster buccal pouch carcinoma / M. M. Afifi [et al.] // *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol.* 2013. № 6. P. 743–751.
4. Tunable plasmonic nanobubbles for cell theranostics / E. Y. Lukianova-Hleb [et al.] // *Nanotechnology.* 2010. № 8. P. 085102.
5. Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance / L. R. Hirsh [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2003. № 23. P. 13549–135554.
6. Nanoshell enabled photonics-based imaging and therapy of cancer / C. Loo [et al.] // *Techno. Cancer Res. Treat.* 2004. № 3. P. 33–40.
7. Near-infrared laser photothermal therapy of cancer by using gold nanoparticles: computer simulations and experiment / I. L. Maksimova [et al.] // *Med. Laser Appl.* 2007. № 22. P. 199–206.
8. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods / X. Huang [et al.] // *J. Amer. Chem. Soc.* 2006. № 128. P. 2115–2120.
9. Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells / T. B. Huff [et al.] // *Nanomedicine.* 2007. № 2. P. 125–132.
10. Gold nanorod assisted near-infrared plasmonic photothermal therapy (PPTT) of squamous cell carcinoma in mice / E. B. Dickerson [et al.] // *Cancer Lett.* 2008. № 1. P. 57–66.
11. Immunogold nanocages with tailored optical properties for targeted photothermal destruction of cancer cells / J. Chen [et al.] // *Nano Lett.* 2007. № 5. P. 1318–1322.
12. In vivo particle tracking and photothermal ablation using plasmon-resonant gold nanostars / H. Yuan [et al.] // *Nanomedicine.* 2012. № 8. P. 1355–1363.
13. Lee K. S., El-Sayed M. A. Dependence of the enhanced optical scattering efficiency relative to that of absorption for gold nanorods on aspect ratio, size, end-cap shape, and medium refractive index // *J. Phys. Chem. B.* 2005. № 43. P. 20331–20338.
14. Optical amplification of photothermal therapy with gold nanoparticles and nanoclusters / B. N. Khlebtsov [et al.] // *Nanotechnology.* 2006. № 17. P. 5167–5179.
15. Application of gold nanoparticles to X-ray diagnostics and photothermal therapy of cancer / G. S. Terentyuk [et al.] // *Proc. SPIE. Saratov Fall Meeting.* 2006. P. 653.
16. Laser-induced tissue hyperthermia mediated by gold nanoparticles: toward cancer phototherapy / G. S. Terentyuk [et al.] // *J. Biomed. Opt.* 2009. № 2. P. 021016.
17. Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles / X. Huang [et al.] // *Lasers Med. Sci.* 2008. № 3. P. 217–228.
18. Nanoengineering of optical resonances / S. Oldenburg [et al.] // *Chem. Phys. Lett.* 1998. Vol. 288. P. 243–247.
19. Optimization of plasmonic heating by gold nanospheres and nanoshells / N. Harris [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* 2006. № 22. P. 10701–10707.
20. Хлебцов Н. Г. Оптика и биофотоника наночастиц с плазмонным резонансом // *Квантовая электроника.* 2008. № 6. С. 504–529.
21. Greisch K. Enhanced permeability and retention of macromolecular drugs in solid tumors: a royal gate for targeted anticancer nanomedicines // *J. Drug. Target.* 2007. № 7–8. P. 457–464.
22. Анализ накопления и биораспределения золотых наночастиц в мезентериальных лимфатических узлах при пероральном введении / О. В. Злобина [и соавт.] // *Саратовский научно-медицинский журнал.* 2013. № 3. С. 17–20.
23. Pharmacokinetic study of PEGylated plasmon resonant gold nanoparticles in tumor-bearing mice / B. Kogan [et al.] // *Tech. Proc. NSTI Nanotechnol. Conf. Trade. Show.* 2008. Vol. 2. P. 65–68.
24. Glomm W. R. Functionalized gold nanoparticles for application in biotechnology // *J. Dispers. Sci. Technol.* 2005. Vol. 26. P. 389–414.
25. Modulation of in vivo tumor radiation response via gold nanoshell-mediated vascular-focused hyperthermia: characterizing an integrated antihypoxic and localized vascular disrupting targeting strategy / P. Diagaradjane [et al.] // *Nano Lett.* 2008. № 5. P. 1492–1500.
26. Leeper D. B. Molecular and cellular mechanisms of hyperthermia alone or combined with other modalities // *Hyperthermic oncology* / ed. by J. Overgaard. London: Taylor and Francis, 1984. P. 9–40.
27. Dickson J. A., Calderwood S. K. Thermosensitivity of neoplastic tissues in vivo // *Hyperthermia in cancer therapy* / ed. by F. K. Storm. Boston: Hall medical publishers, 1983. P. 63–140.
28. Streffer C. Mechanism of heat injury // *Hyperthermic oncology* / ed. by J. Overgaard. London: Taylor and Francis, 1984. P. 213–222.
29. Hyperthermia, Na⁺K⁺ATPase and lactic acid production in some human tumour cells / R. H. Burdon [et al.] // *Br. J. Cancer.* 1984. № 4. P. 437–445.
30. Calderwood S. K., Hahn G. N. Thermal sensitivity and resistance of insulin-receptor binding in thermotolerant cells // *Biochem. Biophys. Acta.* 1983. № 1. P. 76–82.
31. Fuhr J. E. Effect of hyperthermia on protein biosynthesis in L5178Y murine leukemic lymphoblasts // *J. Cell Physiol.* 1974. № 3. P. 365–372.
32. The effects of hyperthermia on cellular macromolecules / J. L. Roti [et al.] // *Hyperthermia and oncology* / ed. by M. Urano. Utrecht: VSP, 1988. P. 13–56.
33. The role of apoptosis in the response of cells and tumours to mild hyperthermia / B. V. Harmon [et al.] // *Int. J. Radiat. Biol.* 1991. № 2. P. 489–501.
34. Evaluation of the effect on normal liver of interstitial laser hyperthermia using artificial sapphire probes / H. M. Sweetland [et al.] // *Lasers Med. Sci.* 1993. № 8. P. 99–105.
35. Vogel A. M., Venugopalan V. Mechanisms of pulsed laser ablation of biological tissues // *Chem. Rev.* 2003. № 2. P. 577–644.
36. Plasmonic nanobubbles rapidly detect and destroy drug-resistant tumors / E. Y. Lukianova-Hleb [et al.] // *Theranostics.* 2012. № 10. P. 976–987.
37. Photothermal tumor ablation in mice using near infrared-absorbing nanoparticles // D. P. O'Neal [et al.] // *Cancer Lett.* 2004. № 2. P. 171–176.
38. Integrin $\alpha v \beta 3$ -targeted gold nanoshells augment tumor vasculature — specific imaging and therapy / H. Xie [et al.] // *Int. J. Nanomedicine.* 2011. № 6. P. 259–269.
39. Model feasibility study of particle-assisted laser ablation of brain tumors in orthotopic canine / J. A. Schwartz [et al.] // *Cancer Res.* 2009. № 4. P. 1659–1667.
40. Computationally guided photothermal tumor therapy using long-circulating gold nanorod antennas / G. Von Maltzahn [et al.] // *Cancer Res.* 2009. № 9. P. 3892–3900.
41. Фототермические эффекты при лазерном нагреве золотых наностержней в суспензиях и в привитых опухолях

в экспериментах *in vivo* / Г.С. Терентюк [и др.] // Квантовая электроника. 2012. № 6. С. 380–389.

42. Gold nanocages as photothermal transducers for cancer treatment / J. Chen [et al.] // *Small*. 2010. № 7. P. 811–817.

43. Генфольд М.Л., Барчук А.С. Лазерная селективная гипертермия в лечении злокачественных новообразований. СПб., 2002. 13 с.

44. <http://www.nanospectra.com/patients/trialinfo.html> 30.06.2013.

Translit

1. Thermal therapy. Part 3: Ablation / R. Habash [et al.] // *Critical Rev. Biomed. Eng.* 2007. № 1. P. 37–121.

2. Elbialy N., Abdelhamid M., Youssef T. Low power argon laser-induced thermal therapy for subcutaneous Ehrlich carcinoma in mice using spherical gold nanoparticles // *J. Biomed. Nanotechnol.* 2010. № 6. P. 687–693.

3. Therapeutic efficacy of plasmonic photothermal nanoparticles in hamster buccal pouch carcinoma / M.M. Afifi [et al.] // *Oral. Surg. Oral. Med. Oral. Pathol. Oral. Radiol.* 2013. № 6. P. 743–751.

4. Tunable plasmonic nanobubbles for cell theranostics / E.Y. Lukianova-Hleb [et al.] // *Nanotechnology*. 2010. № 8. P. 085102.

5. Nanoshell-mediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance / L.R. Hirsh [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2003. № 23. P. 13549–13554.

6. Nanoshell enabled photonics-based imaging and therapy of cancer / S. Loo [et al.] // *Techno. Cancer Res. Treat.* 2004. № 3. P. 33–40.

7. Near-infrared laser photothermal therapy of cancer by using gold nanoparticles: computer simulations and experiment / I.L. Maksimova [et al.] // *Med. Laser Appl.* 2007. № 22. P. 199–206.

8. Cancer cell imaging and photothermal therapy in the near-infrared region by using gold nanorods / X. Huang [et al.] // *J. Amer. Chem. Soc.* 2006. № 128. P. 2115–2120.

9. Hyperthermic effects of gold nanorods on tumor cells / T.B. Huff [et al.] // *Nanomedicine*. 2007. № 2. P. 125–132.

10. Gold nanorod assisted near-infrared plasmonic photothermal therapy (PPTT) of squamous cell carcinoma in mice / E.B. Dickerson [et al.] // *Cancer Lett.* 2008. № 1. P. 57–66.

11. Immunogold nanocages with tailored optical properties for targeted photothermal destruction of cancer cells / J. Chen [et al.] // *Nano Lett.* 2007. № 5. P. 1318–1322.

12. *In vivo* particle tracking and photothermal ablation using plasmon-resonant gold nanostars / H. Yuan [et al.] // *Nanomedicine*. 2012. № 8. P. 1355–1363.

13. Lee K.S., El-Sayed M.A. Dependence of the enhanced optical scattering efficiency relative to that of absorption for gold metal nanorods on aspect ratio, size, end-cap shape, and medium refractive index // *J. Phys. Chem. B.* 2005. № 43. P. 20331–20338.

14. Optical amplification of photothermal therapy with gold nanoparticles and nanoclusters / B.N. Khlebtsov [et al.] // *Nanotechnology*. 2006. № 17. P. 5167–5179.

15. Application of gold nanoparticles to X-ray diagnostics and photothermal therapy of cancer / G.S. Terentyuk [et al.] // *Proc. SPIE. Saratov Fall Meeting*. 2006. P. 653.

16. Laser-induced tissue hyperthermia mediated by gold nanoparticles: toward cancer phototherapy / G.S. Terentyuk [et al.] // *J. Biomed. Opt.* 2009. № 2. P. 021016.

17. Plasmonic photothermal therapy (PPTT) using gold nanoparticles / X. Huang [et al.] // *Lasers Med. Sci.* 2008. № 3. P. 217–228.

18. Nanoengineering of optical resonances / S. Oldenburg [et al.] // *Chem. Phys. Lett.* 1998. Vol. 288. P. 243–247.

19. Optimization of plasmonic heating by gold nanospheres and nanoshells / N. Harris [et al.] // *J. Phys. Chem. B.* 2006. № 22. P. 10701–10707.

20. Hlebcov N.G. Optika i biofotonika nanochastich s plazmonnym rezonansom // *Kvantovaya jelektronika*. 2008. № 6. S. 504–529.

21. Greisch K. Enhanced permeability and retention of macromolecular drugs in solid tumors: a royal gate for target-

ed anticancer nanomedicines // *J. Drug. Target.* 2007. № 7–8. P. 457–464.

22. Analiz nakoplenija i bioraspredelenija zolotyh nanchastich v mezenterial'nyh limfaticeskikh uzlah pri peroral'nom vvedenii / O.V. Zlobina [i soavt.] // *Saratovskij nauchno-meditsinskij zhurnal*. 2013. № 3. S. 17–20.

23. Pharmacokinetic study of PEGylated plasmon resonant gold nanoparticles in tumor-bearing mice / B. Kogan [et al.] // *Tech. Proc. NSTI Nanotechnol. Conf. Trade. Show*. 2008. Vol. 2. P. 65–68.

24. Glomm W.R. Functionalized gold nanoparticles for application in biotechnology // *J. Dispers. Sci. Technol.* 2005. Vol. 26. P. 389–414.

25. Modulation of *in vivo* tumor radiation response via gold nanoshell-mediated vascular-focused hyperthermia: characterizing an integrated antihypoxic and localized vascular disrupting targeting strategy / P. Diagaradjane [et al.] // *Nano Lett.* 2008. № 5. P. 1492–1500.

26. Leeper D.B. Molecular and cellular mechanisms of hyperthermia alone or combined with other modalities // *Hyperthermic oncology* / ed. by J. Overgaard. London: Taylor and Francis, 1984. P. 9–40.

27. Dickson J.A., Calderwood S. K. Thermosensitivity of neoplastic tissues *in vivo* // *Hyperthermia in cancer therapy* / ed. by F.K. Storm. Boston: Hall medical publishers, 1983. P. 63–140.

28. Streffer C. Mechanism of heat injury // *Hyperthermic oncology* / ed. by J. Overgaard. London: Taylor and Francis, 1984. P. 213–222.

29. Hyperthermia, Na⁺K⁺ATPase and lactic acid production in some human tumour cells / R.H. Burdon [et al.] // *Br. J. Cancer*. 1984. № 4. P. 437–445.

30. Calderwood S. K., Hahn G. N. Thermal sensitivity and resistance of insulin-receptor binding in thermotolerant cells // *Biochem. Biophys. Acta*. 1983. № 1. P. 76–82.

31. Fuhr J.E. Effect of hyperthermia on protein biosynthesis in L5178Y murine leukemic lymphoblasts // *J. Cell Physiol.* 1974. № 3. P. 365–372.

32. The effects of hyperthermia on cellular macromolecules / J.L. Roti [et al.] // *Hyperthermia and oncology* / ed. by M. Urano. Utrecht: VSP, 1988. P. 13–56.

33. The role of apoptosis in the response of cells and tumours to mild hyperthermia / B.V. Harmon [et al.] // *Int. J. Radiat. Biol.* 1991. № 2. P. 489–501.

34. Evaluation of the effect on normal liver of interstitial laser hyperthermia using artificial sapphire probes / H.M. Sweetland [et al.] // *Lasers Med. Sci.* 1993. № 8. P. 99–105.

35. Vogel A.M., Venugopalan V. Mechanisms of pulsed laser ablation of biological tissues // *Chem. Rev.* 2003. № 2. P. 577–644.

36. Plasmonic nanobubbles rapidly detect and destroy drug-resistant tumors / E.Y. Lukianova-Hleb [et al.] // *Theranostics*. 2012. № 10. P. 976–987.

37. Photothermal tumor ablation in mice using near infrared-absorbing nanoparticles // D.P. O'Neal [et al.] // *Cancer Lett.* 2004. № 2. P. 171–176.

38. Integrin bvv³-targeted gold nanoshells augment tumor vasculature — specific imaging and therapy / H. Xie [et al.] // *Int. J. Nanomedicine*. 2011. № 6. P. 259–269.

39. Model feasibility study of particle-assisted laser ablation of brain tumors in orthotopic canine / J.A. Schwartz [et al.] // *Cancer Res.* 2009. № 4. P. 1659–1667.

40. Computationally guided photothermal tumor therapy using long-circulating gold nanorod antennas / G. Von Maltzahn [et al.] // *Cancer Res.* 2009. № 9. P. 3892–3900.

41. Fototermicheskie jeffekty pri lazernom nagreve zolotyh nanosterzhnej v suspensijah i v privityh opuholjah v jeksperimentah *in vivo* / G.S. Terentyuk [i dr.] // *Kvantovaya jelektronika*. 2012. № 6. С. 380–389.

42. Gold nanocages as photothermal transducers for cancer treatment / J. Chen [et al.] // *Small*. 2010. № 7. P. 811–817.

43. Genfol'd M. L., Barchuk A. S. Lazernaja selektivnaja gipertermija v lechenii zlokachestvennyh novoobrazovanij. SPb., 2002. 13 с.

44. <http://www.nanospectra.com/patients/trialinfo.html> 30.06.2013.