

Новые подходы к избирательной доставке противоопухолевых препаратов: клеточная физиология и нанотехнологии

Е.С. Северин¹, Г.А. Посыпанова²

¹ *Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения; Россия, Москва;*

² *ГУЗ Московский НИИ медицинской экологии; Россия, Москва*

Развитие фундаментальных исследований в области молекулярной и клеточной физиологии – основа для создания новых методов терапии. Развитие представлений о процессе эндоцитоза легло в основу идеи направленного транспорта лекарственных соединений, т.е. избирательной доставки лекарств в клетки-мишени, метаболизм которых нуждается в коррекции.

Основными причинами недостаточной эффективности химиотерапевтического лечения онкозаболеваний является низкая биодоступность противоопухолевых агентов для опухоли, необходимость использовать высокие дозы цитостатиков и неселективный характер этих препаратов. Кроме того, длительное применение химиотерапевтических агентов чревато развитием множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток, что делает используемые препараты неэффективными. В основе феномена лекарственной устойчивости лежат такие различные по природе внутриклеточные механизмы, как снижение транспорта препаратов через плазматическую мембрану, нарушение уровня экспрессии онкогенов, повреждение систем сигнальной трансдукции и др. Для повышения эффективности терапии опухолей необходимо увеличение избирательности действия лекарственных препаратов. Достичь этого можно благодаря использованию современных технологий для создания систем регулируемого транспорта хорошо известных противоопухолевых соединений. Концепция создания высоко-

специфичных систем направленной доставки основывается на представлении о том, что клетки-мишени, в том числе опухолевые клетки, должны иметь на поверхности своей плазматической мембраны уникальные молекулярные структуры (рецепторы), представленные исключительно или преимущественно на этих клетках. С такими детерминантам могут комплементарно связываться их природные лиганды. Связывание лиганда с рецептором стимулирует процесс рецептор-опосредованного эндоцитоза, что ведет к интернализации рецептора и транслокации молекул лиганда внутрь клетки. Молекулы, обладающие высоким сродством к белку-рецептору, избирательно представленному на клетке-мишени, могут быть использованы в системах направленного транспорта в качестве векторных молекул, обеспечивающих избирательный перенос внутрь клетки биологически активных соединений. Для достижения этой цели к такому вектору необходимо с помощью ряда химических модификаций присоединить желаемый агент – цитостатик или наноконтейнер с цитостатиком.

Мы обнаружили, что на поверхности клеток опухолевых линий человека, а также на гистологических срезах злокачественных опухолей экспрессируется специфический рецептор онкофетального белка α -фетопротейна (АФП). Причем этот рецептор не обнаруживался ни на поверхности нормальных лимфоцитов периферической крови, ни на срезах нормальных тканей и

доброкачественных опухолей. Сравнительное изучение фармакокинетики АФП человека в организме мышей и крыс с привитыми опухолями при введении радиоактивно меченого АФП показало преимущественное накопление ^{125}I -АФП в ткани опухоли. Мы обнаружили, что содержание меченого АФП в нормальных тканях было значительно ниже и через сутки падало до нуля, в то время как в опухоли значимые количества ^{125}I -АФП регистрировались и через 2 сут.

Таким образом, рецептор α -фетопро-теина может служить уникальной мишенью на поверхности опухолевых клеток, а системы доставки на основе его природного лиганда – АФП – обеспечивать избирательную доставку цитостатиков в эти клетки. Анализ связывания и эндоцитоза АФП позволяет говорить о высокой эффективности и специфичности накопления АФП в активно пролиферирующих опухолевых клетках и отсутствии накопления этого белка в непролиферирующих лимфоцитах.

Использование АФП в качестве вектора для адресной доставки ковалентно присоединенных цитостатиков в опухолевые клетки продемонстрировало высокую эффективность и избирательность данной системы доставки. Лечение животных с экспериментальными опухолями конъюгатами АФП с доксорубицином, винбла-стином и эсперамицином приводило к значительному увеличению продолжительности жизни животных. АФП избирательно доставлял лекарственные препараты в опухолевые клетки и, таким образом, значительно повышал терапевтическую эффективность противоопухолевых препаратов. Обнаружено, что конъюгаты цитостатиков с АФП способны преодолевать множественную лекарственную устойчивость опухолевых клеток.

Исследование АФП и анализ структуры белка позволило нам сделать заключение о локализации мотива связывания с рецептором в С-концевом фрагменте молекулы. Мы получили рекомбинантный С-концевой фрагмент АФП (RCFA) и доказали, что данный белок специфически связывается с рецептором АФП и избирательно интернализуется опухолевыми клетками. Синтезированные нами конъюгаты RCFA с доксорубицином и паклитакселом проявляли высокую противоопухолевую активность.

Существенного повышения противоопухолевой активности препаратов избирательного действия можно достичь, присоединя ковалентно к векторной молекуле не 1-2 молекулы цитостатика, а наноконтейнеры, содержащие значительно большее количество лекарственного препарата. В качестве таких наноконтейнеров мы использовали биodeградируемые наночастицы на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA). В наночастицах активный ингредиент абсорбирован в матрице; выделение его из частицы может происходить в результате десорбции с поверхности, диффузии из матрицы и/или биodeградации носителя. Подобные адресные наночастицы представляют собой новое поколение наночастиц-переносчиков лекарств.

Обнаружено, что адресные наночастицы с присоединенным RCFA эффективно интернализируются опухолевыми клетками и вызывают мощный цитотоксический эффект в отношении этих клеток. Крайне важным свойством адресных наночастиц является их способность преодолевать резистентность опухолевых клеток, обусловленную функционированием ABC-транспортеров цитоплазматической мембраны.