

ТЕРАНОСТИКА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: РЕЗУЛЬТАТЫ МИРОВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПУТИ РАЗВИТИЯ

© 2023 г. Л.А. Ромодин^{*,**, #}

^{*}Государственный научный центр Российской Федерации – Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна ФМБА России, ул. Маршала Новикова, 23, Москва, 123098, Россия

^{**}Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), Волоколамское шоссе, 11, Москва, 125080, Россия

[#]E-mail: rla2904@mail.ru

Поступила в редакцию 16.09.2022 г.

После доработки 03.10.2022 г.

Принята к публикации 25.10.2022 г.

Тераностика – область медицины, занимающаяся разработкой средств, которые являются одновременно и терапевтическими агентами, и инструментами ранней диагностики заболеваний. Данный эффект обусловлен, в первую очередь, адресной доставкой агента в клетки-мишени. Разработка клинически эффективного тераностического препарата станет крупнейшим прорывом в медицине. В настоящем аналитическом мини-обзоре описаны современные подходы к решению задач тераностики онкологических заболеваний. Описываются последние исследования по применению радиофармпрепаратов и систем, которые обуславливают МРТ-визуализацию раковых опухолей, являясь одновременно и терапевтическим агентом; приводятся сведения об использовании различных систем с применением флуоресцирующих агентов, в частности – антистоксовых флуорофоров, сигнал от которых хорошо различим на фоне свечения тканей, окружающих раковые клетки, по сравнению с другими флуоресцирующими веществами. Также приводятся сведения о сравнительном применении классических химиотерапевтических агентов и перспективных препаратов на основе природных веществ, обладающих меньшей токсичностью, например, сульфорофана и цитохрома с.

Ключевые слова: онкология, тераностика, диагностика, терапия, антистоксовые флуорофоры, радиоонкология, окислительный стресс.

DOI: 10.31857/S0006302923020187, EDN: CCUOTY

Классическим направлением тераностики онкологических заболеваний является применение радиоактивных изотопов, многие из которых тропны к определенным тканям. Это направление появилось одним из первых, и в настоящее время работы в данной области активно продолжаются. Так, авторы работы [1] сообщают об успешном применении в исследовании на людях методики, в сравнении с другими методами эффективно выявляющей метастазы рака простаты, – позитронно-эмиссионной томографии с использованием в качестве радиофармпрепарата ^{68}Ga (претерпевает β^+ -распад), связанного с лигандом к мембранной форме простатспецифического антигена. Во множестве сходных работ используется ^{177}Lu , претерпевающий β^- -распад; русскоязычный обзор [2] дает исчерпывающую информацию по данному поводу.

В настоящее время ведется разработка средств против нейроblastомы, альтернативных дину-

туксимабу – моноклональному антителу к гликофинголипиду GD2 – применение которого вызывает сильные побочные эффекты. Многие коллективы обратили внимание на метайодобензилгуанидин (содержащий ^{131}I) для лечения и диагностики нейроblastомы; сведения по этому вопросу обобщены в обзоре [3].

Однако применение радиоактивных источников сопряжено с рядом опасностей. Помимо того, что ионизирующее излучение само по себе является онкогенным фактором, следует обратить внимание на то, что в некоторых случаях оно может привести к развитию большей устойчивости раковых клеток за счет изменения функций белка p53 [4].

Главным поражающим фактором при действии ионизирующего излучения является развитие каскада свободнорадикальных реакций. Таким образом, индукция данного процесса в раковой клетке способна привести к ее гибели и без действия данного фактора. Авторы работы [5] приводят исчерпывающую информацию о раз-

Сокращение: МРТ – магнитно-резонансная томография.

личных подходах к использованию свободнорадикальных процессов в тераностике онкологии. Одна группа подходов подразумевает индукцию образования активных (а значит – короткоживущих) радикалов в раковых клетках посредством доставки в них определенных агентов и действия фактора-индуктора. Сюда можно отнести фотодинамическую, хемодинамическую, сонодинамическую и газовую (для запуска NO-обусловленного стресса) терапию, а также лечение гипоксического рака. Последнее предполагается за счет индукции радикалами Cl^{\bullet} хлорного стресса за счет облучения раковых клеток, предварительно обогащенных $AgCl$, светом, приводящим к гомолитическому распаду данного соединения. Другая группа подходов предполагает использование стабилизированных радикалов, применение которых возможно в фототермической терапии, а также – для магнитно-резонансной и фотоакустической визуализации. Интерес вызывают работы [6, 7], посвященные противораковому действию сульфорафана, вызывающего индукцию образования активных форм кислорода в раковых клетках (при этом имеются данные о его возможном антиоксидантном действии на соматические клетки). Данный интерес обусловлен природным растительным происхождением данного вещества.

Уже далеко не первый год сразу несколькими научными группами ведется исследование применения комбинированных препаратов, основанных на одновременном цитотоксическом действии. Например, авторы работы [8] показали бóльшую эффективность совместного действия сульфорафана и фотодинамической терапии в сравнении с их применением по отдельности против раковых клеток головы и шеи человека.

Авторы работы [9] сообщают о разработке новой супрамолекулярной структуры для индукции окислительного стресса в раковых клетках, представляющей собой золотые наночастицы на подложке из черного фосфора, с которой связаны оксид марганца (MnO_2) и фосфолипид, выделенный из сои. MnO_2 обеспечивает истощение антиоксидантной системы раковой клетки и индукцию окислительного стресса. При действии ультразвука на данную структуру происходит активное образование Mn^{2+} , являющегося хорошим T1-агентом для улучшения визуализации опухоли при магнитно-резонансной томографии (МРТ). Состав системы в целом, также обеспечивает хорошее обнаружение ее при помощи МРТ. Система была апробирована на культуре клеток и мышцах.

Если вернуться к средствам против нейроblastомы, то новые разработки в этой области не сводятся только к использованию радиофармпрепаратов. Так, авторы работы [10] испытали на

мышцах «многофункциональную наномедицинскую» систему, основанную на доставке в клетки нейроblastомы доксорубина (классического химиотерапевтического препарата) и малых интерферирующих РНК, специфичных к транскрипту проонкогена MYCN. Адресность доставки обеспечивалась аптамером к GD2. В качестве достоинств своего метода авторы работы [10] назвали низкую токсичность и иммуногенность системы, а также более низкую, в сравнении с моноклональными антителами, стоимость средства доставки. Авторы работы [11] на культуре клеток нейроblastомы продемонстрировали возможности аптамерных рецепторов эпидермального фактора роста РНК для доставки агентов в экспрессирующие его раковые клетки. Далее планируется исследование на лабораторных животных.

В работе [12] сообщается об успешном применении в клинической практике системы для визуализации глиомы; доставка агента – за счет антитела к рецептору эпидермального фактора роста; флуоресцирующим агентом выступил Panitumumab-IRDye800 – конъюгат белка с эфиром IRDye800CW-N-гидроксисукцинимидом. Данный агент оказался гораздо более чувствителен по сравнению с 5-аминолевулиновой кислотой, официально одобренной ранее для применения в клинической практике [13]. С помощью препарата удалось визуализировать клетки глиомы, оставшиеся в организме после проведения хирургической операции по удалению опухоли.

Использование цитотоксических агентов химической природы – бурно развивающееся направление тераностики. Поскольку, в отличие от радионуклидов, данные химические токсины невозможно отслеживать по испускаемому ими излучению, то средство доставки необходимо также снабжать отдельными диагностическими агентами. В абсолютном большинстве работ – это флуорофоры, общие сведения о которых приведены в обзоре [14] и среди которых можно выделить:

– квантовые точки, обладающие выраженным побочным эффектом, а потому их перспективность для медицины сомнительна (отметим, что при этом имеются в последнее время данные об исследованиях CdSe в целях тераностики интракраниальной глиобlastомы [15]);

– золотые наночастицы (2–100 атомов), с которыми возможно связать множество агентов, но которые обладают слишком широким пиком эмиссии и, возможно, токсическим эффектом;

– кластеры атомов углерода различной структуры, от аморфной и графеноподобной до нанодIAMAZOV, не имеющие токсического эффекта, а потому потенциально вполне применимые в условиях организма;

– полупроводниковые частицы пористого кремния, хорошо подходящие для доставки и рН-

зависимого высвобождения цитотоксического агента, однако имеющие относительно небольшую в сравнении с квантовыми точками интенсивность свечения в окне прозрачности биологической ткани (в коротковолновой инфракрасной области);

– антистоксовые флуорофоры – наиболее перспективные, по мнению авторов работы [14] (отметим, что данные структуры – изобретение коллектива авторов [14, 16, 17], использующих наночастицы состава NaYF_4 , легированные Yb^{3+} и Er^{3+} или Tm^{3+}), имиджинговые агенты, главным свойством которых является более короткая длина волны испускаемого света по сравнению с возбуждающим, что в сочетании с продолжительным (до миллисекунд) временем жизни позволяет применять системы отложенной регистрации для более выраженного сигнала на фоне фотосума от окружающих целевые клетки тканей.

Работы с антистоксовыми флуорофорами во многом посвящены разработке наиболее эффективного средства связывания белков с наночастицей. В Институте биоорганической химии РАН несколько лет назад были разработаны конструкции на основе связывания флуорофора с барстаром и антитела (или специфического к рецептору HER2 белка неиммуноглобулиновой природы DARPIn) с барназой. Взаимодействие барстара и барназы обеспечивает целостность конструкции, но поскольку в данном способе не контролируется сайт присоединения барстара к наночастице, он оказывается ориентированным в раствор случайным образом.

Куда более частый способ сборки подобных наночастиц для тераностики – это применение химического линкирования. Данные по подобной конструкции с антистоксовым флуорофором, соединенным с белковой конструкцией DARPIn-LoPE, осуществляющей доставку агента к клеткам аденокарциномы молочной железы с последующей их гибелью, приведены в работе [17]. Однако в этом случае лиганд к специфическому рецептору клетки-мишени также оказывается ориентирован в растворе случайно. Сюда же следует добавить, что идеального способа создания данных конструкций подобным путем не разработано.

Достаточное число работ посвящено модификациям белков для создания тераностических агентов. Авторы работы [18] использовали высокоэффективные пептидные лигазы (бутелаза-1 и VyPAL2) для модификации аффитела, нацеленного на рецептор эпидермального фактора роста, флуоресцентной меткой и митохондриюлитическим пептидом по его N- и C-концам. Также была получена циклическая форма аффитела, конъюгированного с доксорубицином. Оба модифицированных аффитела показали повышенную

цитотоксичность по отношению к клеткам линии A431 – в 10 и 100 раз по сравнению с неконъюгированным доксорубицином и свободным митохондриюлитическим пептидом соответственно. Об успешном применении лигазы VyPAL2 в сходном, в целом, исследовании сообщают и авторы работы [19]. В работе [20] была изучена протеаза McPAL1, действующая на связь после остатка Asp или Asn, но при этом обладающая лигазной активностью, что позволяет использовать ее для получения циклических полипептидов.

В патенте [16] представлен способ получения супрамолекулярной конструкции для тераностики на основе антистоксовых флуорофоров, при получении которой присоединение рекомбинантных белков KillerRed или mCherry к ним было более контролируемым в сравнении с аналогами, описанными выше. Это было достигнуто за счет аффинного взаимодействия остатков гистидина на C-конце белков с Ni^{2+} , содержащимся на поверхности флуорофора за счет связывания с нитрилоуксусной кислотой, присоединенной к полиакриловой кислоте, покрывающей частицу конфигурации ядро/оболочка состава $\text{NaYF}_4:\text{Yb,Er}/\text{NaYF}_4$.

Еще одной работой в области тераностики, наряду с работой [9], предлагающей МРТ-визуализацию опухоли, является публикация [21], в которой представлен магнитный липидный наноконструктивный носитель, содержащий доксорубин для тераностики меланомы. Данная система обеспечивает хорошую визуализацию опухоли на МРТ и при этом под действием магнитного поля вызывает локальную гипертермию, приводящую к гибели клеток. Таким образом, авторы работы [21] разработали систему двухфакторного уничтожения раковых клеток.

В качестве еще одного магнитного средства доставки стоит упомянуть гибридные наночастицы на основе золота и оксида железа. В работах [22, 23] сообщается об их использовании для доставки экзогенного цитохрома *c* в клетки гепатоцеллюлярной карциномы (Huh-7D12) и эндотелиального рака печени человека (SK-hep1) совместно с применением различных химиотерапевтических агентов. Была показана гораздо большая эффективность такого подхода по сравнению с использованием только химиотерапевтических препаратов. Необходимо упомянуть, что имеются данные об использовании в качестве средства доставки цитохрома *c* и иных конструкций – его конъюгата с поликатионным пептидом [24], пористых частиц оксида кремния (IV) [25] и полипептидных мицелл [26].

В целом, применение экзогенного цитохрома *c* для терапии рака вполне можно считать перспективным направлением. Однако необходимо указать, что для действенного его применения в кли-

нической практике необходимо разработать эффективные формы препарата. Подробно эти проблемы освещены в аналитическом мини-обзоре [27].

Также ведется разработка оборудования для синтеза препаратов для нужд тераностики. В настоящее время наметилась тенденция к работе в малых объемах жидкостей и к созданию приборов с отличными от макроаналогов техническими характеристиками. Сюда можно отнести микрофлюидные устройства из полидиметилсилоксана для создания эмульсий [28]. В них возможно управление течением жидкостного и газожидкостного потоков нано- и пиколитровых объемов.

Основополагающей задачей в медицине можно считать адресную доставку лекарственных препаратов. В идеале следует разработать такой тераностический агент, который бы мог попадать в клетки различных опухолей. Описанные же выше работы предлагают препараты для пациентов, у которых уже либо известен, либо подозревается конкретный диагноз. Такой подход делает практически невозможной раннюю диагностику онкологических заболеваний в реальных условиях, — скажем, при проведении общих диспансеризаций. Перспективной можно считать разработку средств доставки, нацеленных на источники выработки ангиогенинов: раковые клетки таковыми и являются. В недавних же работах ангиогенины рассматривались лишь как маркеры классической диагностики онкологии [29, 30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании вышеизложенного можно сказать, что тераностика онкологических заболеваний — одно из наиболее перспективных и бурно развивающихся направлений медицины, в котором к началу третьего десятилетия XXI века разработано множество подходов и методов, главная цель которых — создание средств, одновременно направленных и на раннее выявление злокачественных новообразований, и на их терапию. Исследуется применение с этой целью различных радионуклидов и прочих агентов, направленных на индукцию окислительного стресса в раковых клетках, супрамолекулярных конструкций, содержащих цитотоксический агент и средство визуализации: разнообразные МРТ-контрастные вещества, флуорофоры, среди исследований возможности применения которых особо хочется отметить работы с использованием антистоксовых флуорофоров, наиболее эффективно визуализирующих клетки-мишени. При этом производство препаратов для нужд тераностики зачастую требует разработки нового промышленного оборудования, а потому данная сфера, помимо всего

прочего, актуализирует разработки в области инновационного приборостроения.

Однако для достижения основной цели тераностики необходимо разработать эффективное и, крайне желательно, универсальное средство доставки лекарственного агента в клетки-мишени. На настоящий момент же все описанные в мировой литературе средства доставки подходят лишь для конкретных опухолей. Поэтому для нужд массовой медицины, где требуется универсальное средство для действительно раннего выявления онкологических заболеваний различной этиологии, строго говоря, пока предложить нечего.

Таким образом, на настоящий момент задачу разработки более-менее универсального средства массовой ранней диагностики онкологических заболеваний, ориентированного на опухоли различной природы, считать решенной не представляется возможным.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей или животных в качестве объектов исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. А. Л. Долбов, А. А. Станжевский, Д. Н. Майстренко и др., Онкологич. журн.: лучевая диагностика, лучевая терапия, № 4 (4), 20 (2021).
2. А. А. Медведева, В. И. Чернов, Е. А. Усынин и др., Сибирский онкологич. журн., 20 (3), 115 (2021).
3. M. S. Rafael, S. Cohen-Gogo, M. S. Irwin, et al., *PET clinics*, 16 (3), 419 (2021).
4. О. А. Кучур, Д. О. Кузьмина, М. С. Душинова и А. А. Штиль, *Acta Naturae*, 13 (3), 65 (2021).
5. X. Q. Wang, W. Wang, M. Peng, and X. Z. Zhang, *Biomaterials*, № 266, 120474 (2021).
6. Z. Miao, F. Yu, Y. Ren, and J. Yang, *Int. J. Mol. Sci.*, 18 (1), 72 (2017).
7. P. M. P. Ferreira, L. Rodrigues, L. P. de Alencar Carnib, et al., *Curr. Pharmaceut. Design*, 24 (40), 4779 (2018).
8. S. J. Lee, H. J. Hwang, J. I. Shin, et al., *Gen. Physiol. Biophys.*, 34 (1), 13 (2015).
9. T. Chen, W. Zeng, C. Tie, et al., *Bioactive Mater.*, 10, 515 (2022).
10. L. Zhang, M. Wang, Z. Zhu, et al., *Mol. Therapy. Nucl. Acids*, 26, 732 (2021).
11. А. М. Копылов, Л. В. Фаб, О. Антипова и др., *Биохимия*, 86 (8), 1217 (2021).
12. Q. Zhou, N. S. van den Berg, E. L. Rosenthal, et al., *Theranostics*, 11 (15), 7130 (2021).

13. C. G. Hadjipanayis and W. Stummer, *J. Neuro-oncol.*, **141** (3), 479 (2019).
14. Е. Л. Гурьев, С. Шанвар, А. В. Звягин и др., *Acta Naturae*, **13** (2), 16 (2021).
15. Р. Б. Тагаева, Б. П. Николаев, Л. Ю. Яковлева и др., *Рос. нейрохирургич. журн. им. проф. А. Л. Поленова*, № 13 (1), 89 (2021).
16. Е. Л. Гурьев, Е. А. Соколова и А. В. Звягин, Патент РФ № 2745187. Заявл. 11.02.2020, зарег. 22.03.2021 (Патентообладатель: Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского).
17. Е. Л. Гурьев, А. С. Смышляева, Н. Ю. Шилягина и др., *Докл. РАН*, **491** (1), 137 (2020).
18. Z. Wang, D. Zhang, X. Nemu, et al., *Theranostics*, **11** (12), 5863 (2021).
19. D. Zhang, Z. Wang, S. Hu, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **143** (23), 8704 (2021).
20. H.T. Liew, J. To, X. Zhang, et al., *J. Biol. Chem.*, 297 (6), 101325 (2021).
21. L. Garcia-Hevia, I. Casafont, J. Oliveira, et al., *Bioactive Mater.*, **8**, 153 (2022).
22. W. Al-Shakarchi, A. Alsuraifi, A. Curtis, and C. Hoskins, *Pharmaceutics*, **10** (2), 63 (2018).
23. W. Al-Shakarchi, A. Alsuraifi, M. Abed, et al., *Pharmaceutics*, **10** (2), 48 (2018).
24. P. Imesch, D. Scheiner, E. Szabo, et al., *Exp. Therap. Med.*, **6** (3), 786 (2013).
25. E. Choi, D. K. Lim, and S. Kim, *J. Colloid Interface Sci.*, **560**, 416 (2020).
26. X. S. Sun, M. S. Jang, Y. Fu, et al., *Mater. Sci. Engineer. C – Materials for biological applications*, **114**, 111069 (2020).
27. Л. А. Ромодин, *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*, № 5, 6 (2021).
28. Н. С. Заурин, Е. О. Лазарева и Д. В. Королев, *Наука настоящего и будущего*, № 1, 62 (2021).
29. D. Yu, J. Sun, Y. Weng, et al., *Anti-Cancer Drugs*, **32** (7), 703 (2021).
30. A. H. Aalami, H. Abdeahad, M. Mesgari, et al., *BioMed. Res. Int.*, № 2021, 5557309 (2021).

Theranostics for Oncological Therapy: Results from Worldwide Research and the Paths of Development

L.A. Romodin*, **

*State Scientific Center of the Russian Federation - A.I. Burnazyan Federal Medical Biophysical Center of the Federal Medical Biological Agency of Russia, ul. Marshala Novikova 23, Moscow, 123098 Russia
 **Russian Biotechnological University, Volokolamskoe shosse 11, Moscow, 125080 Russia

Theranostics is a field of medicine with the aim to establish tools for a specific targeted therapy based on early diagnosis of diseases. This effect is primarily due to targeted delivery of the therapeutic agent to the target cells. The development of a clinically effective theranostic drug will be the greatest medical breakthrough. This paper presents an analytical mini-review of some modern approaches to find a solution to the core of the problems of theranostics for oncological therapy and discusses recent studies on the use of radiopharmaceuticals, that can be diagnostic and therapeutic, and systems for visualization of radiopharmaceuticals by means of magnetic resonance imaging for therapy of cancerous tumors. Information is given on application of various systems using fluorescent agents such as anti-Stokes fluorophores, the signal from which is well observed, compared to other fluorescent substances, on a background of the reflected irradiance from tissues surrounding cancer cells. This paper also presents details on the comparative use of classical chemotherapeutic agents and promising drugs developed on the basis of natural substances, for example, sulforaphane and cytochrome c, that have lower toxicity.

Keywords: oncology, theranostics, diagnostics, therapy, anti-Stokes fluorophores, radiation oncology, oxidative stress