

УДК 577.3

НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ РАДИОСЕНСИБИЛИЗИРУЮЩИЕ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ АГЕНТЫ

© 2021 г. Д.Б. Корман, Л.А. Островская, Н.В. Блюхтерова, В.А. Рыкова, М.М. Фомина

Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4

E-mail: larros@list.ru

Поступила в редакцию 16.08.2021 г.

После доработки 16.08.2021 г.

Принята к публикации 19.08.2021 г.

В обзоре представлены данные, связанные с изучением радиосенсибилизирующих свойств и цитотоксической активности наночастиц золота на экспериментальных моделях опухолей. Рассматриваются возможные механизмы наблюдающихся эффектов.

Ключевые слова: наночастицы золота, радиосенсибилизация, цитотоксичность, экспериментальные модели опухолей.

DOI: 10.31857/S000630292106020X

Возможности стандартных методов лучевой терапии опухолей ограничены отсутствием селективности действия ионизирующего излучения на опухоль ввиду того, что абсорбция энергии облучения одинакова для опухолевой и нормальной ткани. В связи с этим невозможно подвести к опухоли дозу ионизирующей радиации, необходимую для полной иррадиации опухоли, поскольку повышение дозы связано с высоким риском тяжелых постлучевых повреждений нормальных органов и тканей. Повышение эффекта облучения без увеличения дозы пытаются получить, комбинируя облучение с применением различных способов усиления радиочувствительности опухолевых клеток (гипербарическая оксигенация, локальная гипертермия, гипергликемия, использование электронно-акцепторных соединений, противоопухолевых препаратов).

Накопленный клинический опыт показывает, что усиления терапевтического эффекта облучения многих опухолей (мультиформная глиобластома, опухоли головы и шеи, рак пищевода, прямой кишки, легкого, шейки матки) в определенных ситуациях можно добиться с помощью химиолучевого лечения, т. е. сочетания облуче-

ния с применением некоторых противоопухолевых препаратов (5-фторурцила, цисплатины, митомидина С и др.). Усиление эффективности лечения в этих случаях обусловлено не только повышением радиочувствительности опухолевых клеток в зоне облучения, но и ингибирующим действием препаратов как на первичную опухоль, так и на отдаленные метастазы. В то же время при химиолучевой терапии возможно усиление токсичности в результате суммации токсических эффектов облучения и химиотерапии [1].

В последние десятилетия фиксируется возрастающий интерес к возможностям применения для биомедицинских целей наночастиц неорганических материалов с высоким Z -числом (атомный номер), обладающих рядом уникальных химических, физических и биологических свойств, которые определяются их размерами, формой, особыми поверхностными свойствами. Показано, что такими свойствами обладают наночастицы золота (НЧЗ), серебра, гадолиния, лантанида, оксида титана. Наибольшее внимание исследователей привлекают НЧЗ благодаря простоте их получения, высокому Z -числу, особым поверхностным свойствам и высокой биосовместимости [2–6].

О возрастающем интересе к исследованиям возможностей применения НЧЗ в онкологии свидетельствует экспоненциальный рост числа публикаций в этой области. Так, первая статья на эту тему появилась в 1999 г., в период 2000–2009 гг. было опубликовано уже 525 статей, а в период 2010–2019 гг. – 6565 статей [7].

Сокращения: НЧЗ – наночастицы золота, в/в – внутривенный, РМЖ – рак молочной железы, КРР – колоректальный рак, РПЖ – рак предстательной железы, ПКРГШ – плоскоклеточный рак головы-шеи, ЕРР – эффект повышенной проницаемости и удерживания (enhancement permeability and retention), ФУД – фактор усиления дозы, АФК – активные формы кислорода, EGFR – рецептор эпидермального фактора роста, ПНЧЗ – пегелированные наночастицы золота.

Первым сообщением о возможности усиления с помощью НЧЗ противоопухолевого эффекта облучения, вероятно, является работа [8]. Мышам с перевитым под кожу раком молочной железы ЕМТ-6 однократно внутривенно (в/в) ввели сферические НЧЗ диаметром 1.9 нм с тиолом в качестве лиганда в дозах до 2.7 г Au/кг (концентрация в опухоли до 7 мг Au/грамм опухоли) в сочетании с рентгеновским облучением в дозе 30 Гр. В течение нескольких минут облучения концентрация золота в опухоли в восемь раз превосходила концентрацию в нормальных тканях. Годовая выживаемость мышей, получивших комбинированное лечение с дозой НЧЗ 2.7 г Au/кг, составила 86%, с дозой 1.35 г Au/кг — 50%, а мышей, получивших только облучение или только НЧЗ — 20 и 0% соответственно [8].

В последующие годы было проведено большое число исследований, связанных с оценкой возможности усиления противоопухолевого эффекта облучения НЧЗ в опытах *in vitro* и *in vivo* на разных опухолевых моделях (рак молочной железы (РМЖ), колоректальный рак (КРР), рак предстательной железы (РПЖ), плоскоклеточный рак головы-шеи (ПКРГШ), рак легкого, яичников, шейки матки, меланома, опухоли мозга, гепатокарцинома, лейкозы, лимфома). При этом были исследованы в широком диапазоне концентраций НЧЗ различного размера, соединенные с разными лигандами. Были использованы разные методы облучения, как киловольтного, так и мегавольтного диапазона (рентгеновские и гамма-установки, линейный ускоритель, протонный пучок, радиоактивные изотопы) [3, 8–17].

Перспективность применения НЧЗ в онкологии с теоретической точки зрения может быть обусловлена рядом их особых свойств:

- значительная фотоэлектрическая активность НЧЗ вследствие высокого Z -числа золота;
- хорошая биосовместимость и низкая токсичность НЧЗ вследствие того, что золото является инертным материалом;
- высокая реакционная способность НЧЗ вследствие оптимального (высокого) соотношения площади и объема наночастиц, что позволяет присоединять к ним различные молекулы;
- способность НЧЗ преимущественно накапливаться в опухолевой ткани;
- низкая проницаемость для НЧЗ капилляров различных нормальных тканей (легкие, сердце, кожа);
- возможность получать НЧЗ разного размера (1–150 нм) с уникальными химическими, электрическими и оптическими свойствами [3, 18].

Важной особенностью НЧЗ, отличающей их от наночастиц других тяжелых металлов, является их пластичность, что позволяет получать НЧЗ различного размера и разнообразной формы. В экспериментальных исследованиях используются НЧЗ различной формы — сфера, стержень, раковина, клетка [6, 7, 11, 12, 19, 20].

НЧЗ представляют собой коллоидальные или кластеризованные наночастицы диаметром от нескольких нм до сотен нм, состоящие из ядра, образованного атомами золота (десятки–сотня атомов).

НЧЗ обычно получают при восстановлении тетрахлороаурата водорода (золотохлористоводородная кислота). В результате действия различных восстанавливающих агентов ионы золота восстанавливаются до нейтральных атомов золота с образованием НЧЗ.

НЧЗ, не имеющие оболочки («голые»), после попадания в кровь быстро агрегируют с образованием более крупных частиц, связываются с разными белками плазмы и интернализируются макрофагами. Для преодоления этих процессов и с целью повышения времени циркуляции НЧЗ в крови к их поверхности обычно присоединяют стабилизирующие лиганды, препятствующие агрегации ядер, абсорбции белками плазмы, фагоцитозу макрофагами. Природа лигандов в значительной мере определяет заряд, полярность и химические свойства НЧЗ.

По сравнению с наночастицами других тяжелых металлов НЧЗ обеспечивают большую широту энергии фотонов, а также могут модифицироваться *in situ* с помощью тиолсодержащих молекул [3, 21, 22].

Немаловажное значение имеет низкая токсичность НЧЗ [13, 23, 24], а также их способность проникать и накапливаться в опухолевой ткани, благодаря эффекту повышенной проницаемости и удерживания (EPR — enhancement permeability and retention), характерному для опухолей и обусловленному дефектами сосудистой сети опухолей [25].

Широко исследуются различные аспекты медицинского применения НЧЗ — при диагностике разных заболеваний в качестве контрастирующего агента, в качестве носителей лекарственных препаратов. Наиболее перспективными для медицинского применения оказались наночастицы размерами 1–100 нм. Особые свойства НЧЗ обосновывают их применение для так называемой фототермальной терапии, т. е. терапии, связанной с выделением тепла в результате облучения НЧЗ светом определенной длины волны, в том числе с помощью лазерного облучения [4, 26].

РАДИОСЕНСИБИЛИЗАЦИЯ НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА

В многочисленных экспериментальных исследованиях с культурами клеток разных опухолей *in vitro* и в опытах с трансплантируемыми опухолями мышей и ксенографтами опухолей человека *in vivo* показано, что сочетанное применение облучения с НЧЗ действительно позволяет повысить эффект лучевой терапии. По данным разных авторов эффективность такого рода воздействия колеблется от 10 до 100% (опыты *in vitro*) [3].

Рациональной основой для обоснования применения НЧЗ в лучевой терапии является способность НЧЗ к высокой абсорбции ионизирующего излучения, различие в способности поглощать энергию между золотом и мягкими тканями, что позволяет безопасно увеличивать дозу ионизирующего излучения при лучевой терапии опухолей вследствие увеличения поглощения энергии на единицу массы опухоли по сравнению с нормальной тканью и определенной селективности аккумуляции НЧЗ в опухоли [4, 11, 12],

Для оценки радиосенсибилизирующей эффективности НЧЗ рассчитываются значения фактора увеличения дозы (ФУД), определяемого как отношение поглощенной дозы в объеме интереса в присутствии наночастиц (D_2) к поглощенной дозе в том же объеме при их отсутствии (D_1): $ФУД = D_2/D_1$ [27].

ФИЗИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ

Физические механизмы радиосенсибилизации клеток НЧЗ, как и другими наночастицами тяжелых металлов, остаются до конца невыясненными. Выдвигались разные гипотезы для объяснения этого феномена, в том числе такие, как:

- усиление поглощения ионизирующего излучения;
- образование фотоэлектронов;
- эффект Оже, при котором происходит вылет электронов ядерной оболочки под влиянием рентгеновского или гамма-излучения;
- эффект Комптона, предполагающий рассеивание фотонов рентгеновского или гамма-излучения на свободных электронах с передачей энергии фотонов электронам и образованием вторичных низкоэнергетических электронов [3, 11, 12, 28, 29].

Считается, что критическая роль в способности НЧЗ повышать дозу поглощенного облучения принадлежит низкоэнергетическим вторичным электронам. В модельных экспериментах с ДНК показано, что такие электроны, генерируемые из

НЧЗ, ведут к локальному накоплению энергии вокруг НЧЗ и усиливают повреждения ДНК [11, 30–32].

Количество низкоэнергетических электронов, образующихся при облучении в клетках, содержащих НЧЗ, зависит от параметров и глубины облучения. Показано, что при облучении клеток HeLa, культивируемых с НЧЗ диаметром 50 нм, степень радиосенсибилизации клеток, определяемая по количеству двухнитевых разрывов ДНК, коррелировала с условиями и глубиной облучения клеток [21]. Установлено также, что количество образующихся вторичных электронов зависит и от размеров лигандов, соединенных с НЧЗ, причем чем короче лиганды, тем значительнее радиосенсибилизирующий эффект НЧЗ [31].

Коэффициент абсорбции энергии фотонов при киловольтном рентгеновском облучении у золота в 100–150 раз больше, чем у мягких тканей [3, 12]. Специальными расчетами показано, что при насыщении опухоли золотом в достаточном количестве полученная локальная доза рентгеновского киловольтного облучения может быть по крайней мере удвоена. В то же время расчеты показывают, что при мегавольтном облучении, которое обычно применяется в клинике при лучевой терапии опухолей, эффекта радиосенсибилизации за счет разности в абсорбции энергии фотонов золота в опухоли и в мягких тканях быть не должно [32].

В модельном эксперименте с использованием полимерного гелиевого дозиметра (MAGAT) было показано, что увеличение полученной дозы гораздо больше при использовании киловольтного облучения (источник Иридий-192) в присутствии НЧЗ по сравнению с мегавольтным облучением (источник Кобальт-60) с теми же НЧЗ – 15 и 5% соответственно [33].

Тем не менее в многочисленных экспериментальных исследованиях показано, что эффекты радиосенсибилизации регистрируются и при мегавольтном облучении. Установлено, что наблюдаемые эффекты радиосенсибилизации часто достоверно превосходят ожидаемые теоретически, на основании чего считается, что эти эффекты являются результатом сложного комплекса физических, химических и биологических взаимодействий НЧЗ с ионизирующим излучением. Показано, что НЧЗ способны сенсибилизировать опухолевые клетки к облучению клинически значимыми энергиями [34].

Предполагается, что в механизмах реализации радиосенсибилизирующего действия НЧЗ играют роль не только физические свойства НЧЗ, но и индуцируемые ими биологические эффекты [12, 28, 30].

ХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ

Эффект радиосенсибилизации клеток под влиянием НЧЗ связывают, согласно одной из гипотез, с возможной химической сенсibilизацией ДНК к радиации в результате активации открытых участков хроматина при взаимодействии с НЧЗ, что повышает чувствительность ДНК к радиационному поражению. Однако этот предполагаемый механизм считается маловероятным, поскольку для того, чтобы обеспечить взаимодействие НЧЗ с ДНК, необходима локализация НЧЗ в ядре, а в большинстве исследований сообщается о локализации НЧЗ в основном в цитозоле клетки.

Другой и, как полагают, главный химический механизм реализации радиосенсибилизирующего действия НЧЗ связывают со способностью электронно-активной поверхности НЧЗ катализировать различные химические реакции, в первую очередь, в результате переноса электронов на O_2 , что ведет к генерации активных форм кислорода (АФК). Этот эффект НЧЗ усиливается при сочетании с облучением [3].

Усиление оксидативного стресса в присутствии НЧЗ может быть связано с вызываемым НЧЗ нарушением внутриклеточного баланса тиолов, что вызывает разбалансировку восстановительного потенциала в клетке, способствующую развитию оксидативного стресса. Возможность такого механизма следует из экспериментов, в которых показано, что облучение опухолевых клеток в присутствии НЧЗ диаметром 1.9 нм ведет к взаимодействию НЧЗ с протеиновой дисульфидизомеразой, катализирующей реакции образования, распада и изомеризации дисульфидных связей в молекулах белков [35].

БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ РАДИОСЕНСИБИЛИЗАЦИИ

Биологические механизмы радиосенсибилизирующего эффекта НЧЗ связывают в основном с такими факторами, как их влияние на оксидантный статус клеток, клеточный цикл и на способность клеток к репарации повреждений. Важная роль отводится при этом природе используемого в НЧЗ лиганда, размеру и заряду НЧЗ. Следует отметить, что эффекты радиосенсибилизации для экспериментов, проведенных в условиях *in vitro* и *in vivo*, различаются и во многом зависят от типа облученных клеток.

Оксидативный стресс. Предполагается, что эффект радиосенсибилизации клеток НЧЗ обусловлен усилением интенсивности оксидативного стресса, индуцированного облучением [36].

Усиленная генерация АФК и индукция оксидативного стресса приводят к повреждениям ДНК, митохондрий, белков и липидов, подавлению способности ДНК к репарации, блокированию клеточного цикла, что в конечном итоге ведет к апоптозу или аутофагии клеток [3, 9, 11, 14, 24].

Радиосенсибилизирующее действие НЧЗ может быть связано с ингибированием фермента тиоредоксинредуктазы 1, ведущим к снижению антиоксидантной защиты клетки. Этот эффект зарегистрирован на клетках рака легкого линии А549, которые инкубировали с НЧЗ диаметром 10 нм в течение 6–24 ч до киловольтного рентгеновского и протонного облучения [37].

На облученных клетках глиомы U937 показано, что НЧЗ диаметром 2 нм достоверно снижают внутриклеточное содержание глутатиона, тогда как применение НЧЗ диаметром 40 и 100 нм не влияло на уровень глутатиона. Этот эффект объясняют тем, что реакция связывания НЧЗ с тиоловыми группами глутатиона максимальна при содержании в НЧЗ ~ 100 атомов золота, которое и имеется в НЧЗ диаметром 2 нм. Следует однако отметить, что, тем не менее, возрастания уровня АФК и связанных с окислительным стрессом повреждений в клетках при самостоятельном применении НЧЗ без облучения в этом исследовании не наблюдали [36].

Клеточный цикл. Повышение чувствительности опухоли к облучению с помощью НЧЗ может быть обусловлено способностью НЧЗ блокировать клеточный цикл с накоплением клеток в фазах, наиболее чувствительных к облучению, и подавлять репарацию повреждений ДНК, индуцированных облучением. Наиболее радиорезистентны клетки в поздней S-фазе, наиболее радиочувствительны – в G₂/M-фазах.

Зависимость радиосенсибилизирующего эффекта НЧЗ от фазы клеточного цикла была показана в опытах с синхронизированной (с помощью метода двойного тимидинового блока) и несинхронизированной культурой клеток РМЖ (MDA-MB-231). Сочетание мегавольтного облучения в дозе 2 Гр на линейном ускорителе с НЧЗ, соединенными с интегринсвязывающим пептидом, увеличило гибель клеток в синхронизированной культуре на 61% по сравнению с несинхронизированной культурой при использовании НЧЗ диаметром 17 нм и на 31% – при применении НЧЗ диаметром 46 нм. Отмечено, что в клетках синхронизированной культуры накопление НЧЗ было в полтора-два раза больше, чем в несинхронизированной [38].

Инкубация клеток РПЖ (DU-145) в течение 24 ч с НЧЗ диаметром 10.8 нм, покрытыми глюко-

зой, привела к ускорению прохождения клетками фазы G_0/G_1 и к аккумуляции клеток в фазе G_2/M . Одновременно зарегистрированы активация циклинов В1 и Е и ингибирование белка р53 и циклина А. При облучении этих клеток дозой 2 Гр после 24-часового инкубирования с НЧЗ ФУД составил 1.5–2.0 [14].

Аналогичные изменения клеточного цикла под влиянием НЧЗ, покрытых тиоглюкозой, приводящие к увеличению радиочувствительности, отмечены в клетках рака яичников (SKOV-3), РМЖ (MDA-MB-231), рака легкого (A549) и меланомы [9, 11, 39].

Усиление эффекта при сочетании радиации с применением НЧЗ может быть обусловлено и собственной цитостатической активностью НЧЗ, которая также ведет к индукции оксидативного стресса, повреждению ДНК, митохондрий, белков, липидов. Иными словами, отчасти усиление эффекта может носить аддитивный характер [3, 9, 11, 14, 24].

Гибель клеток при лучевой терапии с использованием НЧЗ может происходить в результате некроза, апоптоза или аутофагии в зависимости от типа клеток, характера и условий облучения, типа НЧЗ [40, 41].

Репарация повреждений. Известно, что одним из механизмов радиорезистентности опухолевых клеток является эффективная репарация повреждений ДНК, индуцируемых ионизирующей радиацией, поэтому подавление репарации ДНК рассматривается как один из путей повышения эффективности лучевой терапии.

Полученные в разных исследованиях данные о влиянии НЧЗ на репарацию радиационно-индуцируемых повреждений ДНК весьма противоречивы, что, вероятно, определяется различиями в использованных НЧЗ как по размерам и форме, так и по лигандам, а также по типу изученных клеток, источников и мощности облучения [11].

При инкубации клеток HeLa с НЧЗ диаметром 50 нм, покрытых цитратом, обнаружено, что через 4 и 24 ч после облучения в клетках регистрируется умеренное повышение уровня радиационно-индуцированных двухнитевых разрывов ДНК (определяли по содержанию в ядрах количества фокусов γ -H2AX и 53BP1 – маркеров двухнитевых разрывов ДНК) по сравнению с клетками, облученными без НЧЗ, что расценено как указание на подавление пострадиационной репарации двухнитевых разрывов ДНК [34]. При облучении клеток РМЖ, инкубированных с НЧЗ диаметром 2.7 нм, покрытых тиопронином, также обнаружено увеличение уровня двухнитевых разрывов ДНК через 24 ч после облучения, хотя через 30 мин после облучения этот феномен не реги-

стрировался. Высказано предположение, что НЧЗ не влияют на повреждения ДНК, возникающие сразу после облучения [42].

Однако на клетках глиобластомы U-87 было показано, что применение НЧЗ диаметром 18 нм, покрытых сывороточным альбумином, приводит к повышению количества двухнитевых разрывов ДНК уже через 0.5 и 2 ч после облучения по сравнению с клетками, получившими только облучение. Следует отметить, что инкубация клеток глиобластомы в течение 4–24 ч с этими НЧЗ без облучения не сопровождается изменением числа двухнитевых разрывов ДНК [43].

Увеличение числа двухнитевых разрывов ДНК обнаружено также в клетках гепатоцеллюлярного рака Hep2, облученных в присутствии НЧЗ [12].

В ряде исследований не обнаружено влияния НЧЗ на пострадиационную репарацию повреждений ДНК. Авторы работы [44] на клетках РМЖ MDA-MB-231 показали, что применение НЧЗ диаметром 1.9 нм (AuroVist)-контраст для микро-СТ)) не приводит ни к начальному (через 1 ч после облучения), ни к резидуальному (через 24 ч) повышению числа двухнитевых разрывов ДНК по сравнению с клетками, получившими только облучение.

Показано, что конъюгация НЧЗ с радиоактивными изотопами может существенно повысить эффективность брахиотерапии опухолей (разновидность лучевой терапии, при которой источник излучения вводится непосредственно в ткань опухоли). В работе [45] была изучена эффективность интратуморального введения НЧЗ диаметром 30 нм, конъюгированных с ^{177}Lu и панитумабом (моноклональные антитела к рецептору эпидермального фактора роста (EGFR)) на мышцах с трансплантированным подкожно РМЖ человека линии MDA-MB-468, гиперэкспрессирующей EGFR. Через 1 ч после инъекции в опухоли обнаружена высокая абсорбированная доза радиации (30–22 Гр), при этом в некоторых областях опухоли достигающая 250–1300 Гр и в 33–760 раз превышающая концентрацию радиоактивности в разных нормальных органах. Зарегистрировано прекращение роста опухолей в течение 90 суток после введения этих НЧЗ, при этом все мыши прожили более 120 суток. Введение ^{177}Lu без НЧЗ практически не повлияло на рост опухолей, медиана выживаемости мышей в этой группе составила 82 суток (в контроле – 75 суток). Следует отметить, что эффективность НЧЗ, конъюгированных только с ^{177}Lu без панитумаба, достоверно не отличалась от эффективности НЧЗ, включавших панитумаб.

Как уже отмечалось, важную роль в эффекте НЧЗ играют лиганды, присоединяемые к НЧЗ. Природа лигандов в значительной мере определяет заряд, полярность, химические и биологические свойства НЧЗ, их способность проникать и накапливаться в клетках [29].

Лиганды. Наиболее часто в экспериментальных исследованиях используются пегелированные НЧЗ (ПНЧЗ), в которых для покрытия поверхности наночастиц используется хорошо изученный биосовместимый полимер полиэтиленгликоль, создающий вокруг НЧЗ гидрофильный слой. Пегелирование предохраняет НЧЗ от агрегации и поглощения макрофагами, увеличивает время их циркуляции в крови в 10–100 раз, что влияет на их биораспределение [11, 24, 30, 46].

Так, показано, что в/в введение ПНЧЗ (в форме стержней) мышам с ксенографтами меланомы линии MDA-MD-435 сопровождается длительной циркуляцией золота в крови (до 72 ч, $t_{1/2} \sim 17$ ч) с относительно длительным сохранением золота в ткани опухоли (~7% от введенной дозы спустя 72 ч после исчезновения НЧЗ из крови).

Очищение организма от ПНЧЗ происходит с помощью клеток ретикулоэндотелиальной системы печени и селезенки в течение длительного времени. Так, через два месяца после однократной в/в инъекции мышам суммарное содержание золота во всех органах уменьшилось более чем на 50%, а в мышцах, сердце, легких и почках – более чем на 80%, при этом никаких признаков токсичности у мышей в течение двухмесячного периода наблюдения не отмечалось [47].

Используются и другие лиганды – цитрат, альбумины сыворотки крови человека, аполипротеин Е, цистеин, тиоглюкоза, биотин, тиотропонин и прочие [10, 12, 13, 26].

К ядру НЧЗ могут быть присоединены также различные вещества с разными функциональными свойствами (лекарственные препараты, антитела, пептиды, радионуклиды и прочие).

Хорошо известно, что обычное металлическое золото химически инертно. При образовании наноструктур нейтральное золото приобретает необычные свойства, обусловленные их маленькими размерами и при этом большой площадью поверхности, которая электронно-активна, что ведет к высокой реакционной способности, в том числе при взаимодействии с биологическими структурами [12].

На клетках рака яичников человека (SKOV-3) с помощью атомной эмиссионной спектроскопии было показано, что культивирование клеток с НЧЗ, покрытыми тиоглюкозой, повысило интрацеллюлярное содержание НЧЗ на 31% по сравне-

нию с «голыми» НЧЗ ($p < 0.005$) [9]. На клетках РМЖ MCF-7 показано, что комбинация рентгеновского или гамма-облучения с такими НЧЗ приводит к усилению гибели клеток по сравнению с применением «голых» НЧЗ [48].

Значительное усиление радиосенсибилизирующего действия ПНЧЗ может быть достигнуто при присоединении к ним пептидов, способствующих прохождению молекул и наночастиц сквозь плазматическую мембрану клетки. В опытах *in vitro* и *in vivo* показано, что при использовании таких НЧЗ при рентгеновском облучении опухолевых клеток ФУД может достигать 2.3 [49].

Повышение эффективности облучения опухолей может быть получено при использовании в качестве лигандов веществ, для которых в опухолях имеются специфические мишени. Усиление противоопухолевого эффекта таких комбинаций может быть связано не только с усилением радиосенсибилизирующего действия НЧЗ вследствие повышения содержания НЧЗ в опухоли, но и со специфическим противоопухолевым действием лиганда.

На культуре клеток мышинной глиомы линии ALTS1C1 показано, что сочетание ПНЧЗ диаметром 1.8 нм, конъюгированных с селективным ингибитором интегрин $\alpha_v\beta_3$ (RGDfk), гиперэкспрессия которого зарегистрирована во многих опухолях, с киловольтным и мегавольтным облучением увеличило эффективность облучения с ФУД, составившим 1.14–1.33. При введении НЧЗ, связанных с интегринсвязывающим пептидом и с ^{177}Lu , мышам с перевитой глиомой С6, экспрессирующей интегрин $\alpha_v\beta_3$, в опухоли зарегистрированы высокая доза абсорбированной радиации (63.8 ± 7.9 Гр) и достоверное замедление роста опухоли, сопровождающееся снижением кровоснабжения опухоли и снижением экспрессии гена VEGF. При использовании НЧЗ, конъюгированных только с ^{177}Lu или только с интегрин-связывающим пептидом, эти эффекты были достоверно менее выраженными [50, 51].

При сравнении радиосенсибилизирующего эффекта НЧЗ, конъюгированных с цетуксимабом (моноклональные антитела к EGFR), при протонном облучении клеток эпидермоидного рака A431 (экспрессирует EGFR) и клеток меланомы MDA-MB-453 усиление эффекта облучения обнаружили только на клетках A431 [52].

Усиление радиочувствительности опухоли при использовании НЧЗ, ковалентно конъюгированными с цетуксимабом, отмечено и в опытах *in vivo* с ксенографтами ПКРГШ (экспрессирует EGFR). Комбинированное лечение привело к более выраженному раннему и позднему апоптозу, ин-

гибированию ангиогенеза, подавлению репарации и достоверному торможению роста опухоли по сравнению с применением только облучения или цетуксимаба [53].

Культивирование клеток РМЖ (MCF-7 и MDA-MB-231) с НЧЗ, конъюгированными с AS1411 (олигонуклеотид, специфически связывающийся с нуклеотиновым рецептором, гиперэкспрессия которого наблюдается в мембране опухолевых клеток при небольшой экспрессии на нормальных клетках), привело к достоверному увеличению аккумуляции НЧЗ в опухолевых клетках по сравнению с применением «голых» НЧЗ. Применение этого конъюгата в течение 24 ч до мегавольтного облучения клеток на линейном ускорителе привело к достоверному увеличению гибели клеток (оценка клоногенным тестом) по сравнению с использованием только НЧЗ [54].

На клетках ПКРГШ показано, что комбинация киловольтного облучения в дозе 4 Гр с применением НЧЗ диаметром 60 нм, конъюгированных с ингибитором тирозинкиназы AG14787, привела к более значительному цитотоксическому эффекту по сравнению с сочетанием облучения и «голых» НЧЗ, хотя внутриклеточное содержание золота при использовании конъюгированных НЧЗ не увеличилось [55]. Вероятно, эффект усиления цитотоксичности при таком сочетании обусловлен аддитивным цитотоксическим действием облучения и ингибитора тирозинкиназы.

В работе [56] был исследован радиосенсибилизирующий эффект препарата СУТ-6091 (НЧЗ диаметром 2.7 нм, конъюгированные с фактором некроза опухолей TNF- α) в опытах *in vivo* с трансплантированными мышинными опухолями (РМЖ линии 4Т1 и ПКРГШ линии SCCVII). При сочетании СУТ-6091 с однократным киловольтным облучением в дозе 20 Гр рост 4Т1 замедлился в 2.2–2.4 раза (при применении только облучения – в 1.8 раза), при этом эффект не зависел от последовательности применения облучения и СУТ-6091 (за 30 мин до облучения, одновременно с облучением и через 24 ч после облучения). При сочетании СУТ-6091 с фракционированным облучением (12 Гр через день трехкратно) рост 4Т1 замедлился в 5.3 раза (только облучение – в два раза), рост SCCVII – в 8.5 раза (только облучение – в 3.5 раза), при этом у двух животных опухоли регрессировали полностью и не рецидивировали. Следует отметить, что применение только СУТ-6091 было неэффективным. Считают, что синергетический эффект сочетания облучения и СУТ-6091 обусловлен биологическими эффектами TNF- α , в частности, влиянием на кровоснабжение опухолей и их микроокружение, при этом конъюгация с НЧЗ привела к снижению токсичности TNF- α . Об этом

свидетельствовала также проведенная фаза I клинических испытаний СУН-6901.

Авторы работы [57] исследовали радиосенсибилизирующий эффект ПНЧЗ в виде стержней, конъюгированных с гозерелином (аналог лютеинизирующего рилизинг-гормона гипофиза, применяемый для лечения РПЖ). Показано, что при инкубации клеток РПЖ линии РС-3 с конъюгированными НЧЗ пиковая концентрация НЧЗ в клетках после 24-часовой инкубации была в пять раз выше по сравнению с применением НЧЗ без гозерелина, при этом конъюгированные НЧЗ определялись преимущественно в эндосомах, распределенных по цитоплазме, неконъюгированные – в околочелюстных областях. При мегавольтном облучении клеток в дозе 5 Гр на линейном ускорителе после 24-часовой инкубации с конъюгированными НЧЗ при оценке выживаемости клеток клоногенным методом ФУД составил 1.36 ± 0.06 , при применении неконъюгированных НЧЗ – 1.19 ± 0.04 . В опытах *in vivo* с ксенографтами РС-3 сочетание облучения с в/в введением конъюгированных НЧЗ в дозе 10 мг/Ау/кг привело к замедлению роста опухолей на 17 ± 1 сутки, при применении одного облучения или сочетания с неконъюгированными НЧЗ в той же дозе – на 3 ± 2 суток.

Размер и заряд наночастиц золота. НЧЗ способны повышать эффективность облучения протонным пучком, при этом важное значение имеет размер НЧЗ и степень их проникновения в клетку.

Зависимость биологического, в том числе радиосенсибилизирующего действия НЧЗ, от их размера имеет сложный нелинейный характер. Например, в опытах *in vitro* и *in vivo* зарегистрировано, что использование ПНЧЗ диаметром 12.1 и 27.3 нм приводит к большему повышению эффективности гамма-облучения по сравнению с НЧЗ диаметром 4.8 и 46.6 нм. Этот результат связывают с большей аккумуляцией НЧЗ диаметром 12.1 и 27.3 нм в опухолевых клетках [58].

Показано, что при сочетании НЧЗ диаметром 50 нм с протонным пучком ФУД составляет 1.33, а в тех случаях, когда все введенные НЧЗ были интернализированы в клетки – 1.81. При применении НЧЗ диаметром 2 нм ФУД увеличился до 3.98, что было объяснено способностью НЧЗ такого размера проникать в ядро клетки [59].

Данные разных исследований существенно различаются по оптимальным для радиосенсибилизации размерам НЧЗ.

Показано в опытах *in vitro*, что сочетание рентгеновского облучения клеток с применением НЧЗ диаметром 50 нм приводит к более значительному усилению действия облучения (ФУД

составлял 1.43) по сравнению с использованием НЧЗ диаметром 14 и 74 нм (ФУД равнялся соответственно 1,20 и 1.26). При этом было установлено, что наибольшее накопление золота в клетках происходило при использовании НЧЗ диаметром 50 нм [34, 46].

При сравнении эффективности сочетания мегавольтного облучения клеток РМЖ (MDA-MB-231) с покрытыми тиоглюкозой НЧЗ диаметром 16 и 49 нм обнаружено, что усиление гибели клеток по сравнению с применением только облучения было более значительным при комбинации с НЧЗ диаметром 49 нм. Это связывают с более заметным блоком клеточного цикла в фазе G_2/M [39]. При сочетании киловольтного облучения в дозе 15 Гр с интратуморальным введением НЧЗ диаметром 4 и 14 нм, соединенных с меркапто-сукцинатом, мышам с трансплантированным РМЖ линии MDA-MB-23, зарегистрировано достоверное замедление роста опухоли, практически одинаковое при использовании НЧЗ диаметром 4 и 14 нм, более выраженное по сравнению с применением только облучения на 19–30 сутки роста опухоли. Однако достоверное увеличение выживаемости мышей по сравнению с применением только облучения обнаружено лишь при сочетании облучения с НЧЗ диаметром 14 нм [60].

О роли внутриклеточного уровня НЧЗ в усилении действия облучения свидетельствуют данные работы [61], в которой был зарегистрирован существенно больший радиосенсибилизирующий эффект от сочетания протонного облучения с НЧЗ диаметром 10 нм по сравнению с НЧЗ диаметром 5 нм на клетках карциномы A431, при этом аккумуляция в клетках НЧЗ диаметром 10 нм была более чем в два раза выше.

Однако в ряде исследований показано, что маленькие НЧЗ, способные пассивно проникать в опухолевые клетки и накапливаться там в результате эффекта EPR, обладают более высокой цитотоксичностью и большим радиосенсибилизирующим действием по сравнению с более крупными НЧЗ [36].

Наиболее часто в исследовании радиосенсибилизирующих свойств НЧЗ использовались сферические НЧЗ, так как у них относительно легко изменять размер, характер поверхности и ее химические свойства, позволяющие соединять их с различными лигандами. Считается, что маленькие сферические НЧЗ имеют преимущества перед НЧЗ другой формы с точки зрения проникновения и аккумуляции в опухолях [3, 15].

Показано [49], что сферические НЧЗ оказывают более выраженный радиосенсибилизирующий эффект по сравнению с НЧЗ другой формы. Так, при рентгеновском облучении опухолевых

клеток линии Ка, культивируемых в течение 24 ч с НЧЗ разной формы, установлено, что ФУД при использовании пегелированных сферических, шиповидных и стержневидных НЧЗ составлял 1.62, 1.37 и 1.21 соответственно. С этим коррелировала интенсивность проникновения в клетки НЧЗ разной формы. Наибольшее интрацеллюлярное содержание золота зарегистрировано при применении сферических НЧЗ.

На клетках HeLa показано [22], что сферические НЧЗ диаметром 14 или 75 нм на 350–500% эффективнее интернализируются опухолевыми клетками по сравнению с НЧЗ размерами 74×14 нм в форме стержня. Этот феномен объясняют более тесным контактом сферических НЧЗ с мембраной клеток благодаря особенностям их поверхности.

В то же время было показано [30], что в условиях *in vivo* ПНЧЗ в форме стержня имеют более длительное время циркуляции в крови и более интенсивно кумулируются в опухоли по сравнению со сферическими НЧЗ, что объясняют менее интенсивным фагоцитозом таких НЧЗ.

Для повышения концентрации НЧЗ в опухоли может быть использовано интратуморальное введение НЧЗ. На ксенографтах КРР линии НСТ116 показано, что сочетание интратуморального введения НЧЗ средним диаметром 2.77 ± 0.69 нм, покрытых тиотропонином, с киловольтным рентгеновским облучением в дозе 10 Гр, подавляет рост более значительно, чем *in vivo* введение этих НЧЗ или использование только облучения. Время достижения четырехкратного увеличения начального объема опухоли в этом исследовании составило 54, 32 и 37 дней соответственно [10].

Важную роль в радиосенсибилизирующем эффекте НЧЗ играет не только их размер, но и заряд их поверхности, который определяет электростатические взаимодействия с белками сыворотки крови (в частности, с факторами комплемента, которые распознают инородные вещества и предъявляют их макрофагам) и с клеточными мембранами, которые обычно заряжены отрицательно. В результате заряд НЧЗ определяет время их циркуляции в крови после *in vivo* введения и вероятность интернализации [30].

На модельных системах (комплексы ДНК-НЧЗ) показано, что облучение комплексов с положительно заряженными НЧЗ диаметром 5 нм, тесно связывающимися с PO_4 группами ДНК, ФУД составил 4.5, тогда как использование НЧЗ диаметром 15 нм, заряженных отрицательно (существенно слабее связывающихся с ДНК), приводит к значительному меньшему радиосенсибилизирующему эффекту [11, 16].

Очевидно, что вопрос об оптимальном размере и форме НЧЗ для реализации радиосенсибилизирующего эффекта остается открытым.

Радиосенсибилизирующие эффекты НЧЗ зарегистрированы в опытах *in vitro* и *in vivo*, при этом в ряде исследований обнаружены различия в радиосенсибилизирующем действии НЧЗ в условиях *in vitro* и *in vivo*.

Эффекты *in vitro*. Показано, что на клетках меланомы В16F10 мышей применение покрытых цитратом сферических НЧЗ диаметром 18 нм приводит к небольшому (ФУД равен 1.08) повышению эффективности облучения клеток на линейном ускорителе, однако в опытах *in vivo* при сочетании этих НЧЗ с облучением (через 24 ч после в/в введения НЧЗ) мышей с перевитой меланомой В16F10 зарегистрировано достоверное замедление роста опухолей, при этом выживаемость мышей увеличилась с 55 суток при применении только облучения до 65 суток [13].

На клетках глиобластомы U-87 показано, что применение НЧЗ диаметром 18 нм, покрытых сывороточным альбумином, в сочетании с облучением приводит к увеличению числа апоптотических клеток через 48 ч после облучения по сравнению с клетками, подвергнутыми только облучению. Усиление противоопухолевого эффекта при сочетании этих НЧЗ с облучением показано также на ксенографтах глиобластомы U-87 [62]. Повышение эффективности рентгеновского облучения при сочетании с НЧЗ показано на клетках ПКРГШ мышей линии SCCVII [63].

При комбинации *in vitro* мегавольтного облучения на линейном ускорителе клеток меланомы В16F10 и применения сферических ПНЧЗ диаметром 50 нм ФУД составил 1.22 при концентрации НЧЗ 30 мМ [64]. При сочетании килловольтного облучения дозой 1–4 Гр клеток КРР человека (НСТ116) с применением НЧЗ диаметром 2.7 нм, покрытых тиотропонином, ФУД составлял 1.48–1.69 соответственно [10].

Применение *in vitro* НЧЗ диаметром 1.9 нм (AuroVistTM, Nanoprobes, США) с рентгеновским облучением (225 кВ) в дозе 2 Гр привело к увеличению эффективности облучения с ФУД, равным 1.2 ± 0.1 для клеток РМЖ MDA-MD-231 и 1.9 ± 0.3 – для клеток глиомы T98G. Однако на клетках РПЖ DU-145 радиосенсибилизирующего эффекта не наблюдали [65].

На клетках MDA-MB-231 показано, что AuroVistTM сенсибилизирует клетки также к мегавольтному облучению (6 МВ и 15 МВ) с ФУД, равным 1.29 и 1.16 соответственно [44].

Сочетание сферических НЧЗ диаметром 25 нм с мегавольтным облучением на линейном ускорителе (18 МВ) в дозах 4–8 Гр клеток КРР линии HT-29 привело к достоверному снижению числа выживших клеток по сравнению с применением только облучения, однако при облучении дозой 2 Гр этого эффекта не наблюдали – ФУД составил 1.1 при дозе 2 Гр и 2.25 – при дозе 8 Гр [66]. Однако на клетках глиомы T98G не отмечено усиления эффекта при увеличении дозы облучения в сочетании с НЧЗ (AuroVistTM) – при дозе рентгеновского облучения 2 Гр ФУД составил 1.9, при дозе 8 Гр – 1.35 [65].

Килловольтное облучение клеток РПЖ (DU-145), инкубированных с НЧЗ, покрытыми тиоглюкозой, привело к подавлению роста клеток на 45.7%, при использовании «голых» НЧЗ – на 30.6%, только облучения – на 15.9%. Отмечено, что внутриклеточная концентрация была в три раза больше при инкубации клеток с НЧЗ, соединенными с тиоглюкозой, по сравнению с «голыми» НЧЗ [67].

Эффекты *in vivo*. Установлено, что сочетание в/в введения покрытых тропонином НЧЗ диаметром 2.7 нм с рентгеновским облучением интрацеребрально перевитой глиомы мышей линии Tu-2449 увеличивает выживаемость мышей на 50% по сравнению с получившими только облучение. ФУД в этом эксперименте составлял ~300% [43].

Сочетание гамма-облучения (Cs137) (5Гр) с внутрибрюшинным введением мышам НЧЗ с ядром, содержащим 10–12 атомов золота, соединенным с глутатионом, на ксенографтах рака шейки матки человека линии U14 привело к выраженному усилению действия облучения *in vivo* – торможение роста опухоли составило 65% против 8% при применении только облучения. Практически такие же результаты получены в аналогичном эксперименте с использованием НЧЗ с ядром, содержащим 29–43 атома золота [6, 68, 69].

Авторы работы [70] в экспериментах *in vivo* с гепатокарциномой H22 использовали покрытые альбуминами бычьей сыворотки НЧЗ диаметром 8 и 50 нм. НЧЗ вводили в/в в дозе 4 мАu/кг за 30 мин до рентгеновского облучения в дозе 5 Гр. Зарегистрировано усиление эффективности облучения с ФУД, равным 1.93 и 2.02 соответственно. Применение НЧЗ существенно усиливало апоптоз опухолевых клеток по сравнению с использованием только облучения. Следует отметить, что как в опытах *in vitro* (клетки HeLa, HepG2, HeCat), так и *in vivo* (H22) не обнаружено цитотоксичности и противоопухолевого эффекта при применении этих НЧЗ без облучения.

Определенный интерес может представлять изучение радиосенсибилизирующих свойств у зо-

лотосодержащих комплексных соединений, включающих одно- или трехвалентные ионы золота, которые уже применяются в клинической практике, в частности при лечении ревматоидного артрита (препарат Ауранофин) и некоторых паразитарных заболеваний и широко исследуются как противоопухолевые агенты [71, 72]. Обоснованием для такого предположения могут служить данные, согласно которым ионы золота могут восстанавливаться до нейтрального золота с образованием НЧЗ [73].

Тип облученных клеток. Радиосенсибилизирующее действие НЧЗ зависит от типа облученных клеток. В работе [40] была изучена возможность радиосенсибилизации клеток лейкоза человека (линии HL-60 II и Jurkat D1.1) с помощью ПНЧЗ диаметром 5 нм. Установлено, что рентгеновское облучение в дозах 1, 3 и 5 Гр клеток Jurkat (промиелоцитарный лейкоз), культивируемых с НЧЗ, не повысило чувствительность этих клеток к облучению, тогда как эти же НЧЗ достоверно снизили радиорезистентность клеток HL-60 (Т-клеточный лейкоз), но только при облучении в наибольшей дозе (5 Гр). Относительное увеличение радиочувствительности клеток к облучению в дозе 5 Гр для клеток Jurkat составило 1.18, для клеток HL-60 — 1.39, и это коррелировало со снижением числа выживших клеток, зарегистрированным только у клеток HL-60. Облучение дозой 5 Гр клеток HL-60, культивируемых с НЧЗ, привело также к подавлению репродуктивного потенциала выживших клеток, что следовало из значительного (статистически достоверного) снижения в культуре числа клеток в S-фазе через пять суток после облучения ($0.16 \pm 0.03\%$ среди клеток, облученных с НЧЗ, против $3.9 \pm 0.1\%$ в контроле). В клетках Jurkat этот феномен не регистрировался.

По мнению авторов работы [40], различия во влиянии НЧЗ на радиочувствительность клеток разных по гистогенезу типов лейкоза нельзя объяснить только физическими механизмами, поскольку количество НЧЗ в клетках Jurkat ко времени облучения было больше, чем в клетках HT-60. Считают, что это обусловлено и различными биологическими факторами. В качестве подтверждения приводится известный факт дефектности клеток HT-60, в отличие от клеток Jurkat, по p53 и механизмам гибели, которая для клеток HT-60 состоит преимущественно в митотической гибели.

В работе [44] было показано, что при использовании в качестве радиосенсибилизатора НЧЗ диаметром 1.9 нм (AuroVistTM) усиление эффективности облучения обнаружено только на клетках РМЖ MDA-MB-231: ФУД составил 1.16–1.41 в зависимости от характера облучения, тогда как

на нормальных клетках (L132) и клетках РПЖ DU-145 эффект не наблюдался (ФУД — 0.97–1.08). При сочетании таких же НЧЗ и мегавольтного облучения в дозе 2 Гр клеток глиобластомы человека линии U87 ФУД составил 1.27, тогда как на клетках РМЖ MCF-7 — 1.74 [74].

Сочетание мегавольтного облучения в дозе 2 или 4 Гр после четырех-шестичасовой инкубации клеток РПЖ (LNCaP и PC-3) с НЧЗ в форме стержня размером 50 нм не привело к увеличению гибели клеток LNCaP (оценка с помощью клоногенного теста) по сравнению с применением только облучения. На клетках PC-3 зарегистрировано достоверное снижение доли выживших клеток при облучении дозой 2 Гр, тогда как сочетание НЧЗ с облучением в дозе 4 Гр не изменило эффект одного облучения. Эффект от применения НЧЗ также не наблюдали при облучении нормальных клеток ПЖ (линия PNT1A) [67].

Следует отметить, что способность НЧЗ усиливать эффект облучения зависит не только от типа опухолевых клеток, но и от концентрации вводимых НЧЗ.

Так, авторы работы [75] исследовали влияние часовой инкубации с НЧЗ диаметром 1.9 нм (в дозе 10 мкг/мл и 100 мкг/мл) на эффект киловольтного облучения в дозе 2 Гр на клетках пяти разных опухолей — РПЖ (Du-145, PC-3), РМЖ (MCF-7, MDA-MB-231), глиобластомы человека (T98G) и трех линиях нормальных клеток (AGO-1552B — нормальные фибробласты человека, ASTRO — астроциты, L-132 — альвеолярный эпителий). Значимое увеличение эффекта облучения отмечено на клетках MDA-MB-231 (ФУД составил 1.67 и 1.11 при дозах 10 и 100 мкг/мл соответственно), на клетках T98G (ФУД — 1.3 и 1.91) и на клетках AGO-1552B (ФУД — 1.16 и 1.97). Интересно отметить, что на клетках РМЖ эффект оказался более значительным при меньшей дозе НЧЗ.

Особенности физико-химических свойств НЧЗ свидетельствуют об их потенциальной биологической активности и возможной цитотоксичности.

ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА

В большом числе экспериментальных исследований показано, что применение НЧЗ может вызывать гибель опухолевых клеток *in vitro* и торможение роста опухолей *in vivo*.

Очевидно, что цитотоксический и противоопухолевый эффект золотосодержащих соединений следует учитывать при оценке радиосенсибилизирующего действия НЧЗ и при рассмотрении механизмов этого явления.

Цитотоксичность НЧЗ связывают прежде всего с развитием *оксидативного стресса* в результате взаимодействия НЧЗ с кислородом (O_2), что приводит к генерации супероксид радикала и продукции различных АФК. В результате возникают повреждения мембран, митохондрий, ДНК, белков и гибель клетки.

Следует заметить, что разработка препаратов, индуцирующих оксидативный стресс, рассматривается в настоящее время как одна из новых стратегий лекарственного лечения злокачественных опухолей [76].

В ряде исследований показано, что характер гибели клеток (в результате апоптоза, аутофагии или некроза) под действием НЧЗ зависит от размеров, формы и особенностей поверхности НЧЗ [11, 16, 77–82].

Так, например, установлено, что НЧЗ диаметром 1.4 нм, покрытые тиоглюкозой, вызывают преимущественно некротическую гибель клеток рака яичников человека (SKOV-3), поскольку применение ингибитора каспаз (Z-VAD-fmk) не предупреждало гибель клеток. При этом отмечались повреждения митохондрий и повышение уровня АФК [82].

Цитотоксичность НЧЗ может быть связана с их влиянием на уровень *антиоксидантных ферментов*.

Известно, что к развитию оксидативного стресса может вести подавление золотом активности антиоксидантного фермента тиоредоксинредуктазы 1 [71].

Показано, что кластеры Au_{25} , стабилизированные тридекапептидами, проходят через клеточную мембрану с локализацией в цитоплазме и оказывают дозозависимый, ингибирующий активность тиоредоксинредуктазы 1 эффект в результате связывания с содержащим глутаминовую кислоту доменом тиоредоксинредуктазы 1, что ведет к повышению интрацеллюлярного уровня АФК [83].

Зарегистрировано достоверное снижение уровня глутатионредуктазы и супероксиддисмутазы при повышении уровня глутатионпероксидазы и восстановленного глутатиона в разных органах (печень, легкие, почки, сердце) после трех- или семисуточного внутрибрюшинного введения крысам НЧЗ диаметром 10 нм в дозе 50 мкл [79, 80].

Еще одним механизмом цитотоксичности НЧЗ может быть *блок клеточного цикла*.

С помощью специально синтезированных НЧЗ, конъюгированных со специфическими пептидами, способными селективно проникать в ядра опухолевых клеток, показано, что инкуба-

ция клеток плоскоклеточного рака полости рта человека с такими НЧЗ приводит к блокированию клеточного цикла в фазе G_1 , накоплению клеток в фазе G_0/G_1 и уменьшению клеток в фазах S и G_2/M [84, 85].

Влияние НЧЗ на клеточный цикл может различаться для клеток разных опухолей. Например, показано, что культивирование клеток РПЖ (DU-145) с НЧЗ диаметром 1.9 нм, связанными с тиолом (AuroVistTM), ведет к блокированию клеток в фазе G_1 , тогда как на клетках РМЖ (MDA-MB-231) изменения в клеточном цикле не наблюдаются [75].

Важное значение для реализации цитотоксического эффекта НЧЗ имеет их *биодоступность*.

Биодоступность «голых» НЧЗ снижается из-за быстрого поглощения клетками ретикулоэндотелиальной системы и короткого времени циркуляции в крови.

Модификация поверхности НЧЗ является важным этапом создания эффективных НЧЗ. Целью модификации является обеспечение доступности для фагоцитов, усиление проникновения в клетку, направленность к мишени (targeting), контролируемое биораспределение.

Выделяют две стратегии усиления таргетинга — пассивный и активный таргетинг. Пассивный таргетинг подразумевает усиление эндоцитоза и выхода НЧЗ из сосудов опухолевого окружения, что ведет к увеличению аккумуляции НЧЗ в опухоли. Активный таргетинг состоит в соединении НЧЗ со специфическими молекулами, мишенями для которых могут быть углеводороды, антигены и рецепторы поверхностной мембраны клеток. В качестве лигандов, связанных с НЧЗ и обеспечивающих активный таргетинг НЧЗ, используются фолиевая кислота, моноклональные антитела, гормоны, различные функциональные полипептиды и олигопептиды, глюкоза [3].

Характер окружающих НЧЗ *лигандов* наряду с размером и формой частиц также определяет цитотоксичность и радиосенсибилизирующий эффект НЧЗ. Эти параметры определяют транспортировку НЧЗ в опухоль после в/в введения и попадание в опухолевые клетки. В зависимости от этих особенностей НЧЗ проникают в клетку с помощью разных механизмов — простой диффузии (для очень маленьких НЧЗ), рецептор-опосредованного эндоцитоза, макропиноцитоза (для крупных НЧЗ). Наиболее часто НЧЗ проникают в клетку с помощью рецептор-опосредованного эндоцитоза, активность которого зависит от размера, формы и свойств поверхности НЧЗ. Эти особенности разных НЧЗ определяют также их внутриклеточную аккумуляцию и распределение

внутри опухоли. Выведение НЧЗ из клетки осуществляется преимущественно путем лизосомального экзоцитоза, при этом его активность также зависит от особенностей НЧЗ [15, 16, 22, 86].

О влиянии природы лигандов на способность НЧЗ проникать в клетку свидетельствуют следующие экспериментальные данные.

Показано с помощью метода трансмиссионной электронной микроскопии достоверно большее внутриклеточное накопление НЧЗ, покрытых тиоглюкозой, по сравнению с «голыми» НЧЗ (культура клеток рака молочной железы MCF-7). Обнаружено также, что НЧЗ, покрытые тиоглюкозой, проникают в клетку и распределяются в цитоплазме, тогда как НЧЗ, покрытые цистамином, в основном связываются мембраной клеток MCF-7 [48].

Культивирование клеток с НЧЗ, покрытыми тиоглюкозой, как показано с помощью метода атомной эмиссионной спектроскопии, повысило интрацеллюлярное содержание НЧЗ на 31% по сравнению с «голыми» НЧЗ (культура клеток рака яичников человека SKOV-3) [9].

Соединение НЧЗ с трансферрином увеличивает накопление НЧЗ в клетках благодаря усилению эффекта EPR [22].

На роль лигандов в реализации цитотоксического действия НЧЗ указывает отсутствие цитотоксичности НЧЗ, покрытых глутатионом, что связывают с подавлением индукции оксидативного стресса [24].

Соединение НЧЗ с различными функциональными группами (пептиды, антитела), направленными на разные опухолевые мишени, ведет к активному транспорту НЧЗ к опухоли и увеличивает их селективность и интрацеллюлярную концентрацию [12, 30]. Однако это не всегда приводит к увеличению интернализации НЧЗ. Так, показано, что конъюгирование покрытых цитратом НЧЗ диаметром 60 нм с ингибитором тирозин киназы AGF1478 не увеличивает внутриклеточное содержание золота по сравнению с применением «голых» НЧЗ (культура клеток ПКРГШ) [55].

Размер НЧЗ считается наиболее важным фактором, определяющим интрацеллюлярную концентрацию НЧЗ, а следовательно, их цитотоксичность.

Данные о влиянии размера НЧЗ на их проникновение в клетки весьма противоречивы. Большинство исследователей считает, что оптимальный диаметр НЧЗ составляет 10–50 нм, но при этом важное значение имеет также форма НЧЗ и природа присоединенных лигандов, поскольку

они влияют на характер взаимодействия НЧЗ с плазматической мембраной клеток [30].

Показано, что содержание золота в клетке (эпидермального рака линии A43) после инкубирования (24 ч) с НЧЗ диаметром 10 нм (концентрация 0.05 мг/мл) составило 0.78 пг/клетку, при этом НЧЗ локализовались в цитоплазме клеток. При инкубировании клеток с НЧЗ меньшего размера, диаметром 5 нм (в такой же концентрации) содержание золота было примерно вдвое меньше — 0.30 пг/клетку, но НЧЗ определялись как в цитоплазме, так и в ядре [61].

Установлено на примере исследования многоклеточных сфероидов из опухолевых клеток, что НЧЗ диаметром 2 нм проникают в клетки в три раза интенсивнее, чем НЧЗ диаметром 4 нм [87].

Показано, что НЧЗ диаметром 27–30 нм проникают в клетку преимущественно путем рецептор-опосредованного эндоцитоза, в то время как НЧЗ диаметром ~5 нм способны проникать в клетку путем прямой диффузии [26].

Обнаружено, что наибольшее накопление НЧЗ в опухоли (ксенографты меланомы линии MDA-MB-435) достигается после в/в введения НЧЗ диаметром 100 нм. НЧЗ размером 60–80 нм накапливаются в 4.3 раза меньше, НЧЗ диаметром 40 нм — в 9 раз меньше, а НЧЗ диаметром 20 нм — в 38 раз меньше. При этом установлено, что более крупные НЧЗ аккумулировались около сосудистой сети опухоли, тогда как маленькие НЧЗ быстро проникали в опухолевые клетки [22].

По данным ряда исследований оптимальным размером для проникновения НЧЗ в клетку является диаметр 25–50 нм как *in vitro*, так и *in vivo*. У НЧЗ диаметром менее 10 нм и более 100 нм потенциал проникновения в клетку снижен [12].

Важное значение для реализации эффекта НЧЗ имеет скорость их проникновения в клетку, которая также зависит от размера НЧЗ — чем меньше НЧЗ, тем быстрее она попадает в клетку. Показано, что максимальное проникновение в клетку НЧЗ диаметром 1.9 нм происходит в первые часы после контакта НЧЗ с клетками с выходом на плато через 6 ч [12, 88, 89].

Имеются данные о способности НЧЗ селективно аккумулироваться в опухолевых клетках, что связывают с эффектом EPR [12, 16]. Выраженность этого эффекта также зависит от размера НЧЗ. Для всех НЧЗ диаметром менее 100 нм аккумуляция в опухоли определяется преимущественно EPR-эффектом [3]. Показано, что НЧЗ диаметром 10–30 нм аккумулируются в опухолевых клетках быстрее и более значительно, чем НЧЗ большего размера [36]. НЧЗ диаметром менее 50 нм обладают дополнительно способностью легко проходить через клеточные мембраны, а

НЧЗ диаметром менее 20 нм могут проникать через эндотелий сосудов [3].

Степень и скорость проникновения НЧЗ в клетку зависит от *заряда их поверхности*, при этом незаряженные НЧЗ попадают в цитозоль путем медленной диффузии, тогда как заряженные НЧЗ проникают в цитозоль в результате эндоцитоза [88].

На нескольких линиях нормальных клеток (COS-1, эритроциты, *E.coli*) цитотоксичность обнаружена для катионных НЧЗ диаметром 2 нм, тогда как такие же НЧЗ, несущие на поверхности отрицательный заряд, оказались нетоксичными. Этот феномен связывают со способностью катионных наночастиц взаимодействовать с отрицательно заряженными клеточными мембранами, что ведет к их повреждению [26].

Важное значение для реализации цитотоксического и радиосенсибилизирующего действия НЧЗ имеет их внутриклеточное распределение. Считается, что НЧЗ, попавшие в клетку, находятся в везикулах и не способны проникать в ядро. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии показано, что покрытые цитратом НЧЗ диаметром 16 нм после двухчасовой инкубации с клетками HeLa находятся в эндосомах и не определяются в цитозоле и ядре [90]. В то же время обнаружено, что 25% таких же НЧЗ, но меньшего размера (5 нм), попавших в клетки HeLa, регистрируются в ядрах клеток. При использовании НЧЗ такого же диаметра, покрытых пептидами, способными проникать в ядро, внутриядерное содержание наночастиц увеличилось в два раза [26]. НЧЗ диаметром 1.4 нм обнаружены в ядрах клеток меланомы, где они с высокой эффективностью связываются с ДНК (24.5% интернализированных НЧЗ оказались связанными с ДНК) [89]. В работе [13] после 20-часовой инкубации НЧЗ диаметром 18 нм авторы обнаружили их в эндоплазматическом ретикуломе и комплексе Гольджи клеток меланомы В16F10.

Следует отметить, что цитотоксичность НЧЗ для культивируемых опухолевых клеток и для клеток сформированной многоклеточной опухоли, растущих *in vitro*, может различаться. При сравнении цитотоксичности НЧЗ диаметром 3.5 нм в отношении обычной (2D) культуры клеток гепатоцеллюлярного рака линии HepG2 и культуры сфероидов (3D) этих клеток (диаметр сфероида 5.5 нм) обнаружено, что цитотоксичность НЧЗ в два-три раза меньше в отношении сфероидов по сравнению с 2D-культурой клеток. Меньшая цитотоксичность в отношении сфероидов может быть обусловлена плохим проникновением НЧЗ внутрь сфероида, что, по мнению авто-

ров, следует учитывать при применении НЧЗ *in vivo* [91].

Степень проникновения НЧЗ в клетки зависит от *вида клеток*. Так, содержание ПНЧЗ диаметром 5 нм составило $3.0 \cdot 10^3$ и $6.9 \cdot 10^3$ в культурах Т-клеточного лейкоза (линия HL-60) и промиелоцитарного лейкоза (линия Jurkat) соответственно. При этом ПНЧЗ определялись, как правило, в околядерных участках клеток, но не в ядре [40].

Исследование поступления в клетку и внутриклеточного распределения НЧЗ диаметром 1.9 нм (AuroVistTM) при инкубации с разными типами клеток (нормальные клетки линии L132, клетки РПЖ линии DU-145, РМЖ MDA-MB-231), показало существенные различия в аккумуляции НЧЗ в разных клетках. При этом наибольшее накопление НЧЗ отмечено в цитоплазматических лизосомах клеток MDA-MB-231 [44].

ФАРМАКОКИНЕТИКА НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА

Реализация радиосенсибилизирующего и цитотоксического эффекта НЧЗ при применении *in vivo* зависит также от их *фармакокинетики*, которая определяется размерами НЧЗ и связанными с ними лигандами.

При сравнении фармакокинетики ПНЧЗ размерами 4–13 нм и 100 нм установлено, что после в/в введения маленьких НЧЗ высокая концентрация НЧЗ в крови сохранялась в течение 24 ч с исчезновением из крови через семь суток. НЧЗ диаметром 100 нм полностью исчезали из крови через 24 ч. Пик концентрации маленьких НЧЗ в печени и селезенке определялся через семь суток после введения, а в мезентериальных лимфоузлах – через один месяц, тогда как максимум концентрации в этих тканях НЧЗ диаметром 100 нм достигался через 30 мин с более короткой последующей элиминацией. Выявленные различия связывают с разной реакцией клеток ретикулоэндотелиальной системы на НЧЗ разного размера, а также с различным влиянием на метаболические ферменты печени [92].

При в/в введении крысам НЧЗ размерами 10, 50, 100 и 250 нм и определении в тканях разных органов тотального содержания элементарного золота методом ICP-MS (inductively coupled plasma mass spectrometry) обнаружена зависимость характера распределения по органам от размера НЧЗ. При введении НЧЗ диаметром 10 нм золото детектировалось практически во всех исследованных органах (кровь, легкие, печень, селезен-

ка, почки, сердце, тимус, головной мозг, репродуктивные органы) [93].

Дозозависимое накопление золота во всех органах зарегистрировано в экспериментах, в которых мышам в/в вводили НЧЗ диаметром 12.5 нм в дозах 40, 200 и 400 мкг/кг/день ежедневно в течение восьми суток. Установлено, что небольшое количество золота аккумулируется в ткани головного мозга, что свидетельствовало о способности НЧЗ такого размера проходить сквозь гематоэнцефалический барьер. Подчеркивается, что токсические явления при всех изученных режимах введения НЧЗ не отмечались, не выявлены отклонения от нормы при биохимическом исследовании крови и морфологическом исследовании органов [94].

Однако в опытах на крысах с внутрибрюшинным введением в течение трех-семи суток НЧЗ диаметром 10, 20 и 50 нм зарегистрировано токсическое действие НЧЗ на печень; наиболее токсичными оказались НЧЗ наименьшего размера, при этом выраженность эффекта зависела от длительности применения НЧЗ. При гистологическом исследовании регистрировалась дегенерация цитоплазмы и разрушение ядра гепатоцитов. На основании полученных данных высказывается предположение, что токсическое действие НЧЗ может быть обусловлено их взаимодействием с белками и ферментами ткани печени, обеспечивающими механизмы антиоксидантной защиты, что ведет к генерации АФК и индукции оксидативного стресса [95].

По данным авторов работы [46] зависимость токсического действия НЧЗ на нормальные органы от размера НЧЗ нелинейна. Была изучена токсичность сферических НЧЗ размером от 3 до 100 нм, покрытых цитратом, при внутрибрюшинном введении в дозе 8 мг/кг/неделю мышам с Balb/C. Обнаружено, что НЧЗ диаметром 3 и 5 нм, как и 50 и 100 нм, не токсичны, тогда как введение НЧЗ размерами 8–37 нм приводило к развитию токсического поражения печени, селезенки, легких и гибели мышей с медианой 21 сутки. При исследовании пораженных органов с помощью рамановской спектроскопии регистрировалось присутствие в них НЧЗ. Интересно отметить, что в этом же исследовании применение таких «летальных» НЧЗ *in vitro* с клетками HeLa оказалось нетоксичным.

Токсическое поражение печени связывают также с развитием острого воспаления и апоптотической гибелью гепатоцитов, вызванных ПНЧЗ, которые определялись в печени и селезенке до семи суток после однократного введения

мышам. С помощью трансмиссионной электронной микроскопии обнаружены многочисленные НЧЗ в клетках Купфера и макрофагах печени [96].

Через две недели после длительного (ежедневно в течение семи недель) в/в введения крысам НЧЗ диаметром 14 нм в виде коллоидальной суспензии в дозах 0.9, 9 и 90 мкг наиболее значительное накопление золота отмечено в ткани печени и селезенки. Дозозависимая аккумуляция золота (в мкг/г) в тканях разных органов уменьшалась в ряду печень > селезенка > легкие > кости > целая тушка, при этом накопление золота при применении НЧЗ в дозе 0.9 мкг было незначительным во всех тканях. Однако наблюдения за животными в течение эксперимента, биохимическое исследование крови и патоморфологическое исследование органов не выявили признаков острой и подострой токсичности со стороны всех исследованных органов, включая почки [97].

Через четыре недели после четырехнедельного в/в введения крысам НЧЗ диаметром 12.8 нм в дозах 10 и 100 мкг/кг/сутки дозозависимое накопление золота регистрировалось в печени, почках, селезенке и легких, а в ткани головного мозга, яичках и крови золото не обнаруживалось [98]. Через 24 ч после однократного в/в введения сферических НЧЗ диаметром 18 нм мышам с трансплантированной подкожно меланомой В16F10 наибольшее содержание НЧЗ обнаружено в селезенке (350.5 мкг/мг ткани), печени (147 мкг/мг) и опухоли (74.2 мкг/мг), при этом уровень НЧЗ в опухоли в 6.4 раза превышал уровень в окружающих нормальных тканях [23].

НЧЗ способны проникать через гематоэнцефалический барьер и селективно накапливаться в опухоли мозга. На мышах с перевиваемой глиомой Tu-2449 показано, что через 4 ч после в/в введения сферических НЧЗ диаметром 11.2 ± 8.6 нм в дозе 4 г Au/кг (LD_{50} для этих НЧЗ > 5 г Au/кг) опухоль мозга приобрела черный цвет, тогда как окружающая нормальная ткань мозга оставалась розовой. С помощью микроскопической компьютерной томографии через полтора часа после инъекции НЧЗ обнаружено селективное неомогенное накопление золота в ткани опухоли, что связывают с эффектом EPR. С помощью атомной абсорбционной спектроскопии показано, что содержание золота в опухоли составляет $10.0 \pm 0.6\%$ введенной дозы на 1 г опухоли ($1.2 \pm 0.1\%$ w/w золота); отношение содержания золота в опухоли к содержанию в нормальной ткани мозга составило 18.8 : 1 [43].

Установлена возможность всасывания НЧЗ после перорального введения, скорость которого также зависит от их размера – чем меньше НЧЗ, тем быстрее они всасываются. С помощью электронной микроскопии обнаружено, что всасывание происходит в тонком кишечнике путем персорбции через поры в сосочках, образующихся в результате деградации отдельных энтероцитов. После введения мышам коллоидальных НЧЗ размером 4 нм они обнаруживались в тканях почек, печени, селезенки, легких, головного мозга, тогда как введение наибольших из изученных НЧЗ (58 нм) они обнаруживались только внутри желудочно-кишечного тракта, т.е. не всасывались [99].

Практически не исследована фармакокинетика НЧЗ, соединенных с функционально активными лигандами, хотя такая модификация поверхности НЧЗ может значительно влиять на их фармакокинетику [26].

Следует подчеркнуть сложность однозначной интерпретации экспериментальных данных о степени проникновения и накопления НЧЗ в клетках, обусловленную значительным разнообразием изучаемых НЧЗ, типов клеток, используемых методов определения внутриклеточного содержания НЧЗ, которое колебалось в разных исследованиях от десятков до нескольких тысяч [26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение отметим, что исследования возможностей применения НЧЗ в лучевой терапии опухоли интенсивно продолжаются. Однако, несмотря на большой массив экспериментальных данных, полученных за прошедшие 20 лет в опытах *in vitro* и *in vivo*, клинические исследования эффективности сочетания лучевой терапии с применением НЧЗ пока не проводились.

Очевидно, что это связано с противоречивостью результатов разных исследований, обусловленной, по-видимому, значительными различиями в изученных НЧЗ и способах их сочетания с облучением. Все это не позволяет пока сделать однозначный вывод о способности определенных НЧЗ повышать эффективность лучевой терапии, необходимый для обоснования целесообразности клинических испытаний.

Несомненно, исследования в этой области весьма перспективны, но до перехода к клиническим испытаниям требуется значительное продолжение целенаправленных экспериментальных исследований [6, 97].

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая работа не содержит описания исследований с использованием людей и животных в качестве объектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. С. В. Канаев, Практич. медицина **9**, 1 (2008).
2. K. Bromma and D. B. Chithani, *Nanomaterials (Basel)* **10**, 1671 (2020).
3. Y. Chen, J. Yang, S. Fu, and J. Wu, *Int. J. Nanomedicine* **15**, 9407 (2020).
4. S. Siddique and C. L. Chow, *Appl. Sci.* **10**, 3824 (2020).
5. W. Najahi-Missau, R. D. Arnold, and B. Cummings, *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 385 (2021).
6. E. Porret, X. L. Guevel, and J. L. Coll, *J. Mater. Chem.* **13**, 2216 (2020).
7. C. Gerosa, G. Crisponi, V. M. Nurchi, et al., *Pharmaceuticals* **13**, 192 (2020).
8. J. F. Hainfeld, D. N. Slatkin, and H. M. Smilowitz, *Phys. Med. Biol.* **49**, 309 (2004).
9. F. Geng, K. Song, J. Z. Xing, et al., *Nanotechnology* **22**, 501 (2011).
10. M. Shi, B. Paquette, T. Thippayamentri, et al., *Int. J. Nanomedicine* **11**, 5323 (2016).
11. S. Her, D. A. Jaffray, and C. Allen, *Adv. Drug Delivery Rev.* **109**, 84 (2017).
12. S. Rosa, C. Connolly, G. Schettino, et al., *Cancer Nanotechnol.* **8**, 2 (2017).
13. M. Y. Chang, Y. H. Shiau, C. J. Chang, et al., *Cancer Sci.* **99**, 1479 (2008).
14. W. Roia, X. Zhang, L. Guo, et al., *Nanotechnology* **20**, 5101 (2009).
15. S. Penninckx, A. C. Heuskin, C. Michiels, and S. Lucas, *Cancer (Basel)* **12**, 2021 (2020).
16. X. Bai, Y. Wang, Z. Song, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 2480 (2020).
17. A. Vilchis-Juarez, G. Ferro-Flores, S. Santos-Cuevas, et al., *Biomed. Nanotechnol.* **10**, 393 (2014).
18. S. Shrestha, L. N. Cooper, O. A. Andreev, et al., *J. Radiat. Oncol.* **3**, 026 (2016).
19. W. Cai, T. Cao, H. Hong, and J. Sun, *Nanotechnol. Sci. Appl.* **1**, 17 (2008).
20. Y. Tang, Y. Shen, L. Huang, et al., *Environ. Toxicol. Pharmacol.* **39**, 871 (2015).
21. R. I. Beelbeco, H. Korideck, W. Ngwa, et al., *Rad. Res.* **178**, 604 (2012).
22. W. Ngwa, R. Kumar, S. Sridhar, et al., *Nanomedicine (London)* **9**, 1063 (2014).
23. E. Connor, J. Nwamuka, H. Gole, et al., *Small* **1**, 325 (2005).
24. Y. Pan, S. Neuss, A. Leifert, et al., *Small* **3**, 1941 (2007).
25. S. Jain, M. B. Bch, D. G. Hirst, and L. M. O'Sullivan, *Br. J. Radiol.* **85**, 101 (2012).
26. A. M. Alkilany, C. J. Murphy, *J. Nanopart. Res.* **12**, 2313 (2010).

27. В. Н. Морозов, Ф. В. Белоусов, В. И. Зверев и др., *Биофизика* **5**, 629 (2020).
28. J. Zheng, D. J. Hunting, P. Ayotte, and L. Sanche, *Radiat. Res.* **169**, 19 (2008).
29. C. J. Liu, C. Y. Wang, S. T. Cheng, et al., *Phys. Med. Biol.* **55**, 931 (2010).
30. J. Scheumann, R. Berbeco, B. D. Chithrani, et al. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **94**, 189 (2016).
31. F. Xiao, J. Zheng, P. Cloutier, et al., *Nanotechnology* **22**, 465101 (2011).
32. K. T. Butterworth, J. McMahon, F. J. Curreli, and K. M. Prise, *Nanoscale* **4**, 4830 (2012).
33. S. Farahani, N. P. Alam, S. Haghighi, et al., *J. Biomed. Phys. Engl.* **9**, 199 (2019).
34. D. B. Chithrani, S. Jelveh, F. Jalali, et al., *Radiat. Res.* **173**, 719 (2010).
35. L. E. Taggart, S. J. McMahon, K. T. Butterworth, et al., *Nanotechnology* **27**, 215001 (2016).
36. P. Jawaid, M. Rehman, and Q. L. Zhao, *Cell Death Discov.* **6**, 83 (2020).
37. S. Penninckx, A. C. Yeuskin, C. Michiels, and S. Lucas, *Nanomedicine (London)* **13**, 2917 (2018).
38. K. Rieck, K. Bromma, W. Sung, et al., *Br. J. Radiol.* **92**, 1100 (2019).
39. C. Wang, Y. Jiang, X. Li, and L. Hu, *Breast Cancer* **22**, 413 (2015).
40. B. P. Coughlin, P. T. Lawrence, I. Lui, et al., *J. Nanopart. Res.* **22**, 53 (2020).
41. N. Ma, P. Liu, N. He, et al., *ACS Appl. Mater. Interfaces* **9**, 31526 (2017).
42. L. Cui, K. Tse, P. Zahedi, et al., *Radiat. Res.* **182**, 475 (2014).
43. J. F. Hainfeld, H. M. Smilovitz, M. J. O'Connor, et al., *Nanomedicine* **8**, 1601 (2013).
44. S. Jain, J. A. Coulter, A. R. Hounsell, et al., *Int. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.* **79**, 531 (2011).
45. S. Yook, Z. Cai, Y. Lu, et al., *J. Nucl. Med.* **57**, 936 (2016).
46. Y. S. Chen, Y. C. Hung, I. Lian, and G. S. Huang, *Nanoscale Res. Lett.* **4**, 858 (2009).
47. G. Maltzahn, J. H. Park, A. Agrawal, et al., *Cancer Res.* **69**, 3892 (2009).
48. T. Kong, J. Zeng, X. Wang, et al., *Small* **4**, 1537 (2008).
49. N. Ma, F. G. Wu, X. Zhang, et al., *ACS Appl. Mater. Interfaces* **9**, 13037 (2017).
50. M. Enferadi, S. Y. Fu, J. H. Heng, et al., *Int. J. Radiat. Biol.* **94**, 124 (2018).
51. C. Villiers, H. Freitas, R. Couderc, et al., *J. Nanopart. Res.* **12**, 55 (2010).
52. S. Li, S. Bouchy, S. Penninckx, et al., *Nanomedicine (London)* **14**, 317 (2019).
53. A. Popovtzer, A. Mizrahi, M. Moteli, et al. *Nanoscale* **8**, 2678 (2016).
54. S. S. Mehrnia, B. Hashemi, S. J. Mowia, et al., *Radiat. Oncol.* **16**, 33 (2021).
55. M. Kashin, Y. Kakei, S. Teraoka, et al., *Biomed. Res. Int.* **2020**, 1281645 (2020).
56. N. H. Koonce, M. C. Quick, M. E. Hardel, et al., *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **93**, 588 (2015).
57. T. Wolfe, D. Chatterjee, J. Lee, et al., *Nanomedicine* **11**, 1277 (2015).
58. X. D. Zhang, D. Wu, X. Shen, et al., *Biomaterials* **33**, 6408 (2012).
59. V. Lin, S. McMahon, H. Paganetti, J. Schuemann, *Phys. Med. Biol.* **60**, 4149 (2015).
60. B. Janic, S. L. Brown, R. Nelf, et al., *Cancer Biol. Ther.* **22**, 124 (2021).
61. S. Li, S. Penninckx, L. Karmani, et al., *Nanotechnology* **27**, 455101 (2016).
62. N. Chen, W. Yang, Y. Bao, et al., *RSC Adv.* **5**, 40514 (2015).
63. J. F. Hainfeld, F. A. Dilmanian, Z. Zhong, et al., *Phys. Med. Biol.* **55**, 3045 (2010).
64. M. Mousavi, H. A. Nedali, S. Khoei, et al., *Int. J. Radiol. Biol.* **93**, 214 (2017).
65. L. Taggart, S. I. McMahon, F. J. Currell, et al., *Cancer Nanotechnol.* **5**, 5 (2014).
66. M. Zabihzadeh, M. Hoseini-Chahfarokhi, V. Bayati, et al., *Nanomedicine* **5**, 111 (2018).
67. X. Zhang, J. Z. Xing, J. Chen, et al., *Clin. Invest. Med.* **31**, 3 (2008).
68. X. D. Zhang, Z. Luo, J. C. Chen, et al., *Adv. Mater.* **26**, 456 (2014).
69. X. D. Zhang, Z. Luo, J. Chen, et al., *Sci. Rep.* **5**, 8669 (2015).
70. S. Liu, J. Piao, Y. Liu, et al., *Nanomedicine (London)* **13**, 1371 (2018).
71. Д. Б. Корман, Л. А. Островская и В. А. Кузьмин, *Вопр. онкологии*, № 6, 78 (2018).
72. Л. А. Островская, Д. Б. Корман, Н. В. Блюхтерова и др., *Рос. биотерапевтич. журн.* **19** (4), 74 (2020).
73. К. А. Абзаева, Л. В. Жилицкая, Г. Г. Белозерская и др., *Изв. РАН. Сер. хим.* **66** (12), 2314 (2017).
74. R. Ahmad, G. Schettino, G. Royle, et al., *Part. Part. Syst. Charact.* **37**, 1900411 (2020).
75. K. T. Butterworth, J. A. Coulter, S. Jain, et al., *Nanotechnology* **21**, 295101 (2010).
76. Д. Б. Корман, Л. А. Островская и В. А. Кузьмин, *Биофизика* **64**, 552 (2019).
77. J. J. Li, D. Hartono, C. Orig, et al., *Biomaterials* **31**, 5996 (2010).
78. Y. J. Gu, J. Cheng, C. C. Lin, et al., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **237**, 196 (2009).
79. M. Musielak, A. Bos-Liedke, I. Piotrowski, et al., *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 16 (2021).
80. J. C. Dellavechia, B. T. Steiuer, M. L. Freitas, et al., *J. Nanoparticle Res.* **22**, 133 (2020).
81. A. Chakraborty, A. Das, S. Raha, and A. Burui, *J. Photochem. Photobiol. B: Biology* **203**, 11778 (2020).
82. Y. Pan, A. Leifert, D. Ruan, et al., *Small* **5**, 20657 (2009).
83. R. Liu, Y. Wang, Q. Yuan, et al., *Chem. Commun.* **50**, 10687 (2014).
84. M. A. Mackey, F. Saira, M. A. Mahmood, and M. A. El-Sayed, *Bioconjugate Chem.* **24**, 897 (2013).
85. B. Kang, M. A. Mackey, and M. A. El-Sayed, *J. Amer. Chem. Soc.* **132**, 1517 (2010).
86. L. Ding, C. Yao, X. Yin, et al., *Small* **14**, e1801451 (2018).
87. J. Bugno, M. J. Pollemann, and K. Sokolowski, *Nanomedicine* **21**, 102059 (2019).
88. D. B. Chithrani, *Mol. Membrane Biol.* **27**, 299 (2010).
89. M. Tsoli, H. Kuhn, W. Brandau, et al., *Small* **1**, 841 (2005).
90. P. Navito, I. Prior, and M. Brust, *ACS Nano* **2**, 1639 (2008).

91. J. Lee, D. Lilly, R. C. Doty, et al., *Small* **5**, 1213 (2009).
92. W. S. Cho, M. Cho, J. Jeong, et al., *Toxicol. Pharmacol.* **245**, 116 (2010).
93. W. H. De Yong, W. I. Haggens, P. I. Krystek, et al., *Biomaterials* **29**, 1913 (2008).
94. C. Lasagna-Reeves, D. Gonzalez-Romero, M. A. Barria, et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **3939**, 649 (2010).
95. M. A. Abdelhalini and B. M. Jarrar, *J. Nanobiotechnol.* **10**, 5 (2012).
96. W. S. Cho, M. Cho, J. Jeong, et al., *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **236**, 16 (2009).
97. C. Rambanapasi, R. Zeevaart, H. Bunting, et al., *Molecules* **21**, 763 (2016).
98. J. H. Lee, J. H. Sung, H. R. Ryn, et al., *Arch. Toxicol.* **92**, 1393 (2018).
99. J. F. Hillyer and R. M. Albrecht, *J. Pharm. Sci.* **90**, 1927 (2001).

Gold Nanoparticles as Potential Radiosensitizing and Cytotoxic Agents

D.B. Korman, L.A. Ostrovskaya, N.V. Bluhterova, V.A. Rikova, and M.M. Fomina

Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia

The review summarizes data from the study which have been aimed to investigate the radiosensitizing properties and cytotoxic activity of gold nanoparticles on experimental tumor models. The plausible mechanisms related to the observed effects are evaluated.

Keywords: gold nanoparticles, radiosensitization, cytotoxicity, experimental tumor models.