

РЕЗОРБИРУЕМЫЕ ПОЛИМЕРНЫЕ МИКРОЧАСТИЦЫ В КАЧЕСТВЕ МАТРИКСА ДЛЯ ДЕПОНИРОВАНИЯ И КОНТРОЛИРУЕМОЙ ДОСТАВКИ ЦИТОСТАТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА *IN VIVO*

Кузьмина А. М., Горева А. В.
Научный руководитель – Шишацкая Е. И.

*Сибирский федеральный университет
Институт биофизики СО РАН*

Конструирование систем пролонгированной доставки лекарственных систем относится к числу важнейших направлений современной биотехнологии и фармакологии. Ключевым моментом создания контролируемых систем доставки лекарств является наличие адекватного материала, используемого в качестве матрикса. Такие системы особенно актуальны для лечения онкологических и длительно текущих инфекционных заболеваний. Лекарственные средства, депонированные в полимерный матрикс, не оказывают токсического действия на организм и обеспечивают длительное поддержание требуемого уровня лекарственного препарата на необходимый период времени. Перспективным материалом для создания таких матриксов являются полигидроксиалканоаты (ПГА), абсолютно безвредные для организма и обладающие комплексом необходимых физико-механических и медико-биологических свойств, включая деградируемость в биологических средах.

Целью работы является разработка долговременной лекарственной формы доксорубицина на основе ПГА на рост солидного варианта карциномы Эрлиха (КЦ) *in vivo*.

Оценкой исследования эффективности действия лекарственной формы доксорубицина *in vivo* явилось состояние животных исследуемых групп, состав периферической крови, на основе гистологических данных развитие и купирование опухолевого процесса (изменение диаметра бедра, некроз ткани опухоли, лимфациитарная инфильтрация, полнокровие капилляров).

В качестве полимерного носителя был взят полимер β -гидроксимасляной кислоты (полигидроксибутират, ПГБ). Образцы ПГБ синтезированы по технологии Института биофизики СО РАН; в качестве лекарственного препарата взят противоопухолевый антибиотик антрациклинового ряда – Доксорубицин-ЛЭНС (ООО «ЛЭНС-Фарм»).

Методом испарения растворителя из двухкомпонентной эмульсии получены ПГБ микросферы, нагруженные доксорубицином 5% от массы полимерного матрикса (средний диаметр составил $0,34 \pm 0,03$ мкм).

Лабораторным белым мышам вводили клетки КЭ в количестве 2,5 млн на одно животное для формирования модели солидной формы опухоли. В эксперименте было задействовано 4 группы животных, которым была привита КЭ в одинаковой дозе: отрицательный контроль - животные с развитием опухоли без применения цитостатического препарата; положительный контроль - животные с внутривенным введением свободного доксорубицина; две экспериментальные группы – животные с введением одной и двух курсовых доз препарата в виде полимерных микрочастиц местно (в области формирования опухоли).

При анализе картины крови у животных экспериментальных групп не обнаружено систематических изменений, выходящих за границы физиологической нормы и значимых различий по сравнению с интактными животными.

В первую неделю после начала лечения минимальный диаметр бедра в месте прививки опухоли был зарегистрирован в группе животных положительного контроля – $0,93 \pm 0,02$ см. Средний диаметр бедра животных получивших доксорубицин, депонированный в ПГБ микрочастицы в однократной дозе составил $1,16 \pm 0,05$ см. Максимальные значения данного показателя были у животных с привитой опухолью и не получавших препарата – $1,27 \pm 0,04$ см. Через 2 недели после получения препаратов отмечено увеличение среднего диаметра бедра животных во всех группах, но наиболее выраженное – у животных, получивших 1 цикловую дозу доксорубицина в форме микрочастиц – 1,4 раза. К концу эксперимента значение среднего диаметра бедра у животных, не получавших лекарственный препарат, составило $1,7 \pm 0,03$ см, в то время как у животных, получавших свободный доксорубицин, не превысило $1,1 \pm 0,02$ см. Животные, получившие доксорубицин в форме ПГБ микрочастиц, имели более высокие значения среднего диаметра бедра – $1,48 \pm 0,05$ см, что может быть связано с отеком мышечных тканей, вследствие разрушения микрочастиц и оттока токсического доксорубицина в окружающие ткани. Средний диаметр интактных животных к концу эксперимента изменился незначительно.

Помимо изменения среднего диаметра бедра на основе гистологических исследований оценивали структуру и морфологические показатели опухолевого процесса. Показано, что опухолевая ткань представлена резко атипичными крупными, полиморфными опухолевыми клетками, с атипичными крупными полиморфными ядрами, определяются атипичные гигантские многоядерные клетки и симпласты (рис.1).

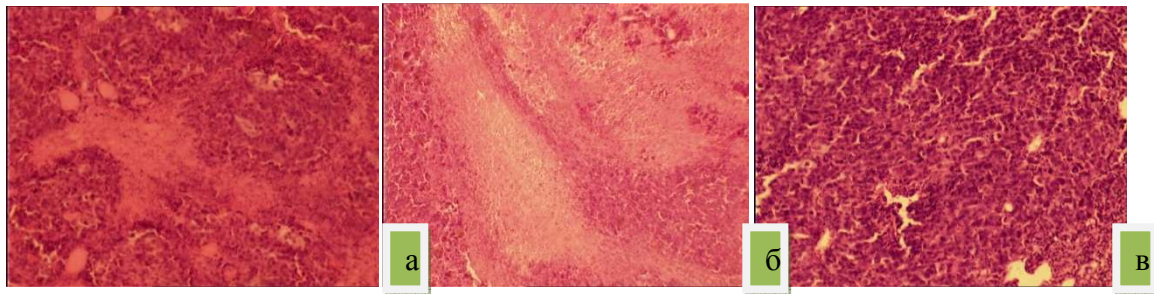


Рис.1 Морфологическая структура опухолевой ткани спустя 1 неделю после введения препарата: положительный контроль (а), экспериментальная группа (б), отрицательный контроль (в). (Светлые участки на препаратах – область некроза). Увеличение $\times 100$

Во всех группах отмечено формирование некрозов в опухолевой ткани щелевидного типа. Зона некроза представлена бесструктурными массами, ядерным детритом, с наличием теней предшествующей ангио-архитектоники опухоли (рис.1).

В группе положительного контроля некрозы в опухолевой ткани имели обширные поля ближе к центральным отделам опухоли, а по периферии (зона инфильтративного роста) опухолевая ткань сохранена. В экспериментальных группах некрозы в опухолевой ткани также были сформированы в виде крупных полей располагающихся в центральных отделах, более мелкие рассеяны по периферическим отделам хаотично.

Отмечено формирование фиброзной капсулы, что связано с ростом опухолевых клеток и зафиксировано во всех группах после начала лечения. Также показано

увеличение фиброзной ткани у животных в экспериментальных группах, что, скорее всего, связано со скопления микрочастиц в опухолевой ткани.

У животных получавших инкапсулированный доксорубицин с увеличением скопления микрочастиц в опухолевой ткани увеличилось количество лимфоцитов, в результате чего образовался лимфоцитарный вал. У животных получавших доксорубицин в свободной форме выраженная лимфоцитарная инфильтрация отмечалась только на первых неделях лечения. В контрольной группе животных выраженная лимфоцитарная инфильтрация была отмечена к концу эксперимента (Рис.2).

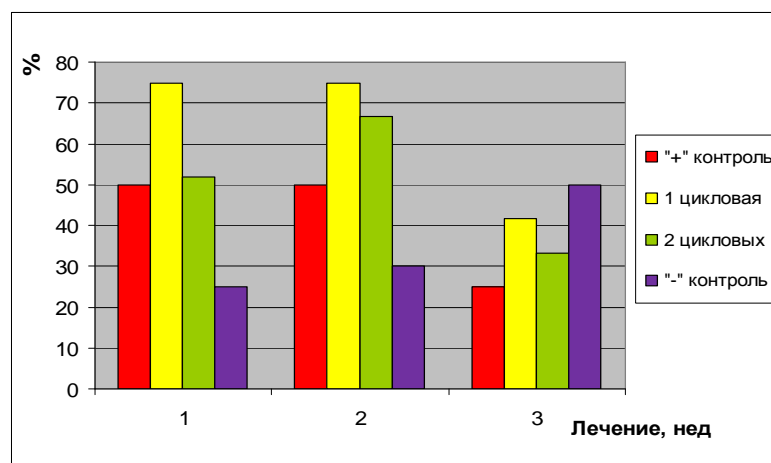


Рис.2 Лимфоцитарная инфильтрация в опухолевых клетках

В качестве показателя противоопухолевой эффективности оценивали площадь опухоли и некроза на срезе. Показано, что действие свободного доксорубицина было сопоставимо с инкапсулированным на первой неделе лечения и площадь опухоли в среднем составила 75% от площади опухолевой ткани на срезе. Начиная со второй недели площадь опухоли в положительном контроле снизилась до 28%, а в экспериментальной группе до 46%. Спустя еще одну неделю после начала лечения площадь опухолевой ткани в положительном контроле и в первой экспериментальной группе (1 цикловая доза) были сопоставимы и составили в среднем около 37%, а во второй экспериментальной группе (2 цикловых дозы) на уровне 22%.

Кроме того, уже начиная с первой недели лечения, наблюдали подавление пролиферативной активности опухолевой ткани с формированием полей некроза, достигающих до 30% от площади опухолевой ткани на срезе у животных экспериментальных групп (Рис.3). Спустя две недели лечения противоопухолевый эффект в положительной контрольной группе был выше, чем в экспериментальных группах. На третьей неделе лечения максимальное подавление развития опухоли отмечено во второй экспериментальной группе животных, которым вводили двойную цикловую дозу препарата, и составило порядка 78%. В то время как животные в положительной контрольной группе и в первой экспериментальной группе, которым вводили одну цикловую дозу, не имели достоверных отличий. Следует отметить, что в отрицательном контроле на всех наблюдаемых этапах некроз в среднем составил порядка 18%.

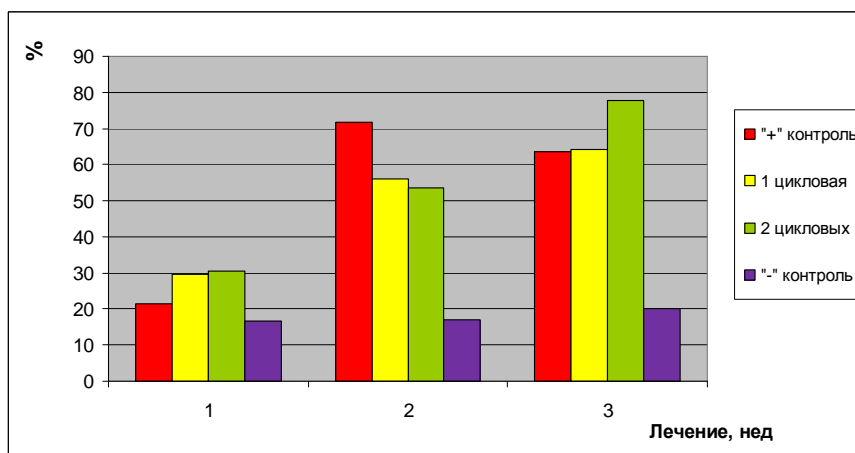


Рис.3 Площадь некроза опухолевой ткани на срезе

Таким образом, результаты экспериментальной оценки противоопухолевой эффективности доксорубина, депонированного в микрочастицы из ПГБ на модели животных с солидной формой КЭ показали, что возможно введение цитостатического препарата, не только внутривенно, но и местно в область пальпации опухоли. Показано, что цитостатический препарат, вводимый лабораторным животным в свободной форме сопоставимо с инкапсулированной формой, тормозил развитие опухолевого процесса относительно группы животных, не получавших препарат. Важно отметить, что свободный препарат вводился еженедельно, в то время как препарат, депонированный в микрочастицы, вводился однократно.