Иммунолипосом нано эмийн хэлбэрийн эмийн бодисын чөлөөлөгдөлтийн судалгаа

Д.Буянхишиг[1], Д.Отгонсүрэн[1], Д.Жамбанинж[1], Ц.Ариунтуяа[1], Г.Дөлгөөн[1], Н.Гантулга[2], Д.Даваадагва[1]
[1]АШУҮИС-ийн Эм зүйн сургууль
[2]Асралтмед эмнэлэг
dorjsurenbuyankhishig92@gmail.com

Түлхүүр үг
Цэтүксимаб, Доксорубицин, Төмөр нанопартикл, Эпидермаль өсөлтийн хүчин зүйлийн рецептор

Товч утга
Хорт хавдрын химийн эмчилгээний нэг том хязгаарлалт бол эмийн бодис нь хавдрын эсэд тусгайлан онилж хүрч чадаагүйгээс болж системийн цитотоксик гаж нөлөөнд хүргэж болзошгүй юм. Бид төмрийн оксидын соронзон чадварыг ашиглахын тулд нимбэгийн хүчлээр бүрсэн төмрийн оксидын соронзон нано ширхэгийг (ТОН) нийлэгжүүлэн гарган авч дулаанд мэдрэг липосом (ДМЛ)-д зөөвөрлүүлж, дараа нь химийн эмчилгээний эмийн бодис болох доксорубицин (ДОК)-ийг ТОН-ДМЛ-д давхар зөөвөрлүүлж, хөхний хавдрын эсийн мембраны гадаргуу дээр байрласан эпидермаль өсөлтийн хүчин зүйлийн рецепторт холбогдох чадвартай цэтүксимаб (ЦЭТ) моноклональ эсрэг бие холбогдсон нано эмийн хэлбэрийг боловсруулж эмийн бодисын чөлөөлөгдөлтийг судалсан. Нийлэгжүүлэн гаргаж авсан эмийн хэлбэр 120нм-ийн хэмжээтэй. Фосфатын буферын pH=5.5 орчинд төмрийн оксидын наноширхэг агуулсан ДОК&ТОН-ДМЛ болон ЦЭТ-ДОК&ТОН-ДМЛ нано эмийн хэлбэрийг хэт улаан туяагаар үйлчилсэнээс 24 цагийн дараа чөлөөт ДОК-ны чөлөөлөгдөлт 84.3% болон 79.6%-д хүрсэн. Хэт улаан туяаны лазераар үйлчилэхэд эмийн хэлбэр нь бүтцээ алдаж эмийн бодис хурдан хугацаанд чөлөөлөгдөлтийг бий болгодог. Ингэснээр эрүүл эсийг гэмтээхээс сэргийлж чадах төдийгүй гипертерми болон химийн эмчилгээнд хавсруулан хэрэглэх боломжтой юм.

Үндэслэл

Дэлхий дахинд хөхний хорт хавдрын өвчлөл нэмэгдэж байгаа төдийгүй энэ нь үхлийн аюултай хорт хавдрын нэг байсаар байна.[1] Орчин үед эпидермал өсөлтийн рецепторийг нано эмийн хэлбэрт ашиглах нь хавдрын эсрэг эмчилгээний хөгжилд их хувь нэмэр болж байна. Эпидермал өсөлтийн хүчин зүйлийн рецепторийг эмчилгээнд ашигласнаар хорт хавдрын эсийн тархалт нэмэгдэхийг болон апоптозыг дарангуйлах үйлдэлтэй байдаг.[2] Уушиг болон хөхний хучуур эдийн хорт хавдарын 1/3 орчимд эпидермаль өсөлтийн рецептор бүртгэгдсэн.[3,4] Cetuximab / Цэтүксимаб/ (ЦЭТ) нь моноклональ эсрэг бие бөгөөд хорт хавдрын эсүүд дээрх эпидермаль өсөлтийн рецептортэй холбогдоход ашигладаг байна. Доксорубицин (ДОК) нь эсийн апоптозыг идэвхжүүлдэг клиникт батлагдсан хорт хавдрын эсрэг эм юм.[5] Сүүлийн хорин жилийн хугацаанд хорт хавдрын эсрэг эмчилгээний байт шинж чанарыг сайжруулахын тулд хорт хавдрын эмчилгээний шинэ аргуудыг дэвшүүлсэн.[6] Төмрийн оксидын наноширхэг (ТОН) нь био нийцэл сайтай, хэмжээг хянахад хялбар байдгаас шалтгаалан химийн эмчилгээ, генийн эмчилгээ, гипертерми-дулааны эмчилгээнд зөөвөрлөгч систем болгон ашиглаж ирсэн. Нано эмийн хэлбэр болох дулаанд мэдрэмтгий липосом (ДМЛ)-ийн био нийцэл, биологийн задрал, эм зөөвөрлөх хүчин чадал зэрэгт нь тулгуурлан эм зөөвөрлөгчөөр ашиглаж ирсэн.[7,8]

Дээр дурдсан зарчимд үндэслэн хөхний хорт хавдарын эсэд сонгомлоор холбогдон химийн болон гипертерми эмчилгээнд хавсруулан хэрэглэх боломжтой аюулгүй, хорон чанар багатай доксорубицин болон төмрийн оксидын наноширхэг зөөвөрлөсөн эсрэг бие холбосон дулаанд мэдрэг липосом нано эмийн хэлбэр (ЦЭТ-ДОК&ТОН-ДМЛ)-ийг гарган авч эмийн бодисоо хяналттай чөлөөлөх боломжтой эсэх асуудал нь энэхүү судалгааг явуулах үндэслэл боллоо.

Зорилго, зорилт

Хөхний хавдрын эсрэг эм болох доксорубицин зөөвөрлөсөн шинэ төрлийн иммунолипосом нано эмийн хэлбэрийн эмийн бодисын чөлөөлөгдөлтийг судлах зорилгын хүрээнд ЦЭТ-ДОК&ТОН-ДМЛ-ээс эмийн бодисын чөлөөлөгдөлтийг pH=7.4, pH=6.8, pH=5.5 орчинд шалгах зорилтыг дэвшүүллээ.

Арга аргачлал

Судалгаанд pH =7.4, pH=6.8, pH=5.4 уусмалын орчинд 24 цагийн дотор ДОК-ДМЛ, ДОК&ТОН-ДМЛ болон ЦЭТ-ДОК&ТОН-ДМЛ нано эмийн хэлбэрүүдээс эмийн бодис чөлөөлөгдөлт болон pH эмийн чөлөөлөгдөлтөнд хэрхэн нөлөөлж буйг судалсан. Бэлтгэсэн дээжүүдийг диализийн уутанд (MWCO,10kDa) хийж, фосфатын буферийн pH=7.4, pH=6.8, pH=5.4 орчинтой уусмал тус тус агуулсан 20 мл-ийн Несслерийн шилэн хоолой (Fisher Scientific)-д бүрэн дүрж байршуулна. Үүнийг 37°C-ийн температуртай усан ваннд 24 цагийн турш байлгана. Хэт улаан туяа нь эмийн бодисын чөлөөлөгдөлтөд хэрхэн нөлөөлж буй тодорхойлохын тулд ДОК-ДМЛ, ДОК&ТОН-ДМЛ болон ЦЭТ-ДОК&ТОН-ДМЛ нано эмийн хэлбэрүүд рүү хэт улаан туяа (λmax-808 nm, 2 W / cm^2)-аар 5 минутын турш үйлчилж, өөр өөр цаг (0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 цаг)-уудад чөлөөт ДОК-ны чөлөөлөгдөлтийг спектрофотометрийн аргыг ашиглан концентрацийг тодорхойлсон.

$$\text{Эмийн чөлөөлөгдөлтийн хэмжээ \%} = \frac{C_n V_1 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i V_1}{W_0} \times 100\%$$

C_n - Хэд дэх n хугацаан дээрх диализийн уутан дахь ДОК-ны концентрацийн хэмжээ

V_1 - Диализийн шингэний эзэлхүүн бөгөөд энэ нь 10 мл

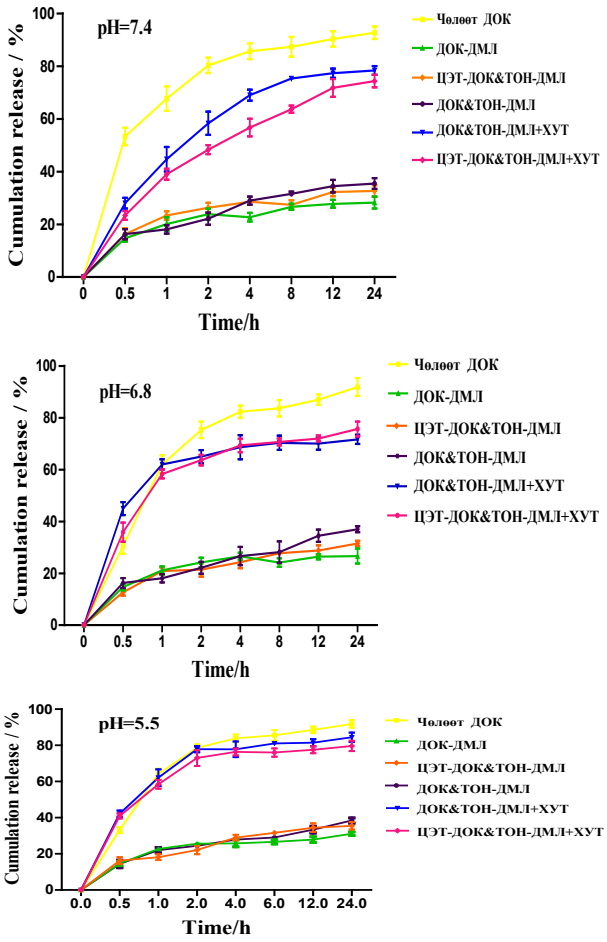
C_1 - Хэд дэх i хугацаан дээрх диализийн уутан дахь ДОК-ны концентрацийн хэмжээ

V_2 - Хэд дэх i хугацаан дээрх авсан дээжийн хэмжээ бөгөөд энэ нь 1 мл

W_0 -Капсулагдсан ДОК-ны нийт хэмжээ

Үр дүн

Фосфатын буферийн pH =7.4, pH=6.8, pH=5.5 орчинд ЦЭТ-ДОК-ТОН-ДМЛ-оос ДОК-ний чөлөөлөгдөлтийг Зураг I дээр үзүүлэв.Бид фосфатын буферын pH =7.4, pH=6.8, pH=5.5 уусмалын орчинд хэт улаан туяагаар үйлчлээгүй үед ДОК-ДМЛ, ДОК-ТОН-ДМЛ болон ЦЭТ-ДОК-ТОН-ДМЛ нано эмийн хэлбэрээс чөлөөт ДОК-ны чөлөөлөгдөлтөнд ямар нэгэн өөрчлөлт байгаагүй. Харин хэт улаан туяагаар үйлчилэхэд ДОК-ТОН-ДМЛ болон ЦЭТ-ДОК-ТОН-ДМЛ нано эмийн хэлбэрүүдээс чөлөөт ДОК-ны чөлөөлөгдөлт нь мэдэгдэхүйц нэмэгдсэн. Фосфатын буферын pH=7.4 орчинд ДОК-ТОН-ДМЛ нано эмийн хэлбэрийг хэт улаан туяа үйлчилсэнээс нэг цагийн дараа чөлөөт ДОК нь хэт улаан туяагаар үйлчилээгүй үеийнхээс 2 дахин их буюу 42% байсан. Харин фосфатын буферын pH=6.8 болон pH=5.5 орчинд ДОК-ТОН-ДМЛ болон ЦЭТ-ДОК-ТОН-ДМЛ нано эмийн хэлбэрийг хэт улаан туяагаар үйлчилэсэнээс нэг цагийн дараа чөлөөт ДОК-ны хэмжээ 3 дахин өссөн буюу 62%-д хүрсэн байлаа. Фосфатын буферын pH=5.5 орчинд төмөр агуулсан дээрх 2 нано эмийн хэлбэрийг хэт улаан туяагаар үйлчилсэний 24 цагийн дараа чөлөөт ДОК-ний чөлөөлөгдөлт 84.3% болон 79.6%-д хүрсэн. Харин pH 6.8 орчинд хэт улаан туяагаар үйлчилснээс 24 цагийн дараа ДОК-ТОН-ДМЛ нано эмийн чөлөөт ДОК-ны чөлөөлөгдөлт 70%, байсан бол ЦЭТ-ДОК-ТОН-ДМЛ нано эмийн чөлөөт ДОК-ны чөлөөлөгдөлт 72% хүрсэн байна.



Зураг 1. Фосфатын буферийн pH =7.4, pH=6.8, pH=5.5 орчинд ЦЭТ-ДОК-ТОН-ДМЛ-оос ДОК-ний чөлөөлөгдөлт

Хэлцэмж

Судалгаагаар бид ЦЭТ-ДОК-ТОН-ДМЛ гэх эм зөөвөрлөх шинэ нано эмийн хэлбэрийг боловсруулсан ба гипертерми эмчилгээтэй хавсруулан хэрэглэхэд хавдрын эсрэг үр нөлөөг сайжруулдаг байна. Хорт хавдрын эсрэг эмчилгээний шинэ, үр дүнтэй эм зөөвөрлөх системийг боловсруулахад судалгаагаар жижиг нано хэмжээтэй (<200nm) эмийн хэлбэр нь хорт хавдрын эсүүдэд нэвтрэх нөлөө ихэссэнээр хавдрын эсүүдэд нано эмийн хэлбэрийн хуримтлалыг нэмэгдүүлдэг.[9]Бидний судалгаагаар ЦЭТ-ДОК-ТНП-ДМЛ-ийн дундаж хэмжээ нь 117±3nm байсан. ТНП -ийг ДМЛ руу зөөвөрлөгдөхийг сайжруулахын тулд ТНП-г нимбэгний хүчилээр бүрхүүл хийж цахилгаан статик орчин бүрдүүлж өгсөн. Судалгаанд харилцан адилгүй 3 төрлийн pH-ийн түвшинд хэт улаан туяагаар үйлчлэх болон үйлчлээгүй байхад төмрийн оксидын наноширхэг зөөвөрлөсөн эмийн хэлбэрээс ДОК-ны чөлөөлөгдөлтийг судлахад pH=6.8 ба 5.5-д хүчиллэг орчинд ХУТ-аар үйлчилсэн эмийн хэлбэрээс чөлөөлөгдөх ДОК-ийн чөлөөлөгдөлт pH=7.4 орчинд ХУТ-аар үйлчилээгүйгээс илт өндөр байгааг харуулсан. Энэ үр дүн нь бусад судлаачдын үр дүнтэй тохирч байна.[10] Хавдрын бичил орчин дахь pH нь сул хүчиллэг pH=6.8, харин эндосом ба лизосомуудад илүү хүчиллэг буюу pH=5.5 байдаг.[11] Энэхүү үр дүнгээс харахад хорт хавдрын эмчилгээний үед ХУТ-аар үйлчилсний дараа ДОК нь хавдрын эсүүдэд хэвийн эд эсээс их хэмжээгээр ялгарч, системийн гаж нөлөө багатай болохыг урьдчилан таамаглаж болно. Сүүлийн үед судлаачид моноклональ эсрэгбие холбогдсон нано эмийн хэлбэрүүдийг эсрэг бие холбогдоогүй нано эмийн хэлбэрүүдтэй харьцуулж харуулсан болно.

Дүгнэлт

Бидний боловсруулсан шинэ төрлийн эм зөөвөрлөгч нано эмийн хэлбэрээс pH=7.4, pH=6.8, pH=5.4 орчинд эмийн бодисын чөлөөлөгдөлтийг тодорхойлоход хэт улаан туяагаар үйлчилэхэд болон орчны pH нь хүчиллэг болох тусам ДОК-ТНП-ДМЛ, ЦЭТ-ДОК-ТНП-ДМЛ зэрэг нано эмийн хэлбэрийн чөлөөт ДОК-ны чөлөөлөгдөлт мэдэгдэхүйц нэмэгдэж байсан. Иймээс хавдрын эсрэг эмчилгээг сайжруулах ирээдүйтэй шинэ эмчилгээний стратеги болж чадах юм.

Ном зүй

1. *Alves CG, de Melo-Diogo D, Lima-Sousa R, Costa EC, Correia IJ. Hyaluronic acid functionalized nanoparticles loaded with IR780 and DOX for cancer chemo-photothermal therapy. Eur J Pharm Biopharm. 2019;137(September 2018):86-94. doi:10.1016/j.ejpb.2019.02.016*
2. *Wee P, Wang Z. Epidermal growth factor receptor cell proliferation signaling pathways. Cancers (Basel). 2017;9(5):1-45. doi:10.3390/cancers9050052*
3. *Brockhoff G, Heckel B, Schmidt-Bruecken E, et al. Differential impact of Cetuximab, Pertuzumab and Trastuzumab on BT474 and SK-BR-3 breast cancer cell proliferation. Cell Prolif. 2007;40(4):488-507. doi:10.1111/j.1365-2184.2007.00449.x*
4. *Roovers RC, Laeremans T, Huang L, et al. Efficient inhibition of EGFR signalling and of tumour growth by antagonistic anti-EGFR Nanobodies. Cancer Immunol Immunother. 2007;56(3):303-317. doi:10.1007/s00262-006-0180-4*
5. *Lьpertz R, Wдtjen W, Kahl R, Chovolou Y. Dose- and time-dependent effects of doxorubicin on cytotoxicity, cell cycle and apoptotic cell death in human colon cancer cells. Toxicology. 2010;271(3):115-121. doi:10.1016/j.tox.2010.03.012*
6. *Wang C, Chen S, Yu Q, Hu F, Yuan H. Taking advantage of the disadvantage: employing the high aqueous instability of amorphous calcium carbonate to realize burst drug release within cancer cells. J Mater Chem B. 2017;5(11):2068-2073. doi:10.1039/c6tb02826h*
7. *Mou X, Ali Z, Li S, He N. Applications of Magnetic Nanoparticles in Targeted Drug Delivery System. J Nanosci Nanotechnol. 2015;15:54-62. doi:10.1166/jnn.2015.9585*
8. *Pradhan P, Banerjee R, Bahadur D, Koch C, Mykhaylyk O, Plank C. Targeted Magnetic Liposomes Loaded with Doxorubicin. Methods Mol Biol. 2010;605:279-293. doi:10.1007/978-1-60327-360-2*
9. *Acharya S, Sahoo SK. PLGA nanoparticles containing various anticancer agents and tumour delivery by EPR effect. Adv Drug Deliv Rev. 2011;63(3):170-183. doi:10.1016/j.addr.2010.10.008*
10. *Luo Y, Tang F, Wang Y, et al. Safety and efficacy of denosumab in the treatment of pulmonary metastatic giant cell tumor of bone. Cancer Manag Res. 2018;10:1901-1906. doi:10.2147/CMAR.S161871*
11. *Chaurasiya B, Huang L, Du Y, et al. Size-based anti-tumoral effect of paclitaxel loaded albumin microparticle dry powders for inhalation to treat metastatic lung cancer in a mouse model. Int J Pharm. 2018;542(1-2):90-99. doi:10.1016/j.ijpharm.2018.02.042.*

Release of drugs from immuno thermo-sensitive liposomes

Buyankhishig.D[1], Jambaninj.D[1] ,Otgonsuren.D[1], Ariuntuya.Ts [1], Dulguun.G[1],Gantulga.N[2] , Davaadagva.D[1]*
[1]MNUMS shool of Pharmacy, [2]Asraltmed hospital
dorjsurenbuyankhishig92@gmail.com

ABSTRACT

One major limitation of cancer chemotherapy is a failure to specifically target a tumor, potentially leading to side effects such as systemic cytotoxicity. In this case, we have generated a cancer cell-targeting nanoparticle-liposome drug delivery system that can be activated by near-infrared laser light to enable local photo-thermal therapy and the release of chemotherapeutic agents, which could achieve combined therapeutic efficiency. To exploit the magnetic potential of iron oxide, we prepared and characterized citric acid-coated iron oxide magnetic nanoparticles (CMNPs) and encapsulated them into thermo-sensitive liposomes (TSLs). The chemotherapeutic drug, doxorubicin (DOX), was then loaded into the CMNP-TSLs, which were coated with an antibody against the epidermal growth factor receptor (EGFR), cetuximab (CET), to target EGFR-expressing breast cancer cells in vitro and in vivo studies in mouse model. The resulting CET-DOX-CMNP—TSLs were stable with an average diameter of approximately 120 nm. After 24 h, a DOX release of 84% from DOX-CMNP- TSLs and CET-DOX-CMNP-TSLs with an irradiation at pH 5.5. These results showed that the release of DOX from DOX-CMNP-TSLs and CET-DOX-CMNP-TSLs increased with the exposure to NIR irradiation as well as at an acidic pH.