

الجسيمات النانوية لتوصيل عقاقير السرطان Nanoparticles for Cancer Drug Delivery

كارولا ليوشنير، وتشالا كومار Carola Leuschner and Challa Kumar

١١,١ المقدمة Introduction

تتضمن تقنية النانو المواد والأنظمة ذات المقياس ما بين ١ و ١٠٠ نانومتر، في بعد واحد على الأقل. وتشكل المواد النانوية جسراً بين عالم الذرات، والجزيئات الفردية، والعالم الكبير (الماكروي). إن الجسيمات النانوية تكون أصغر من أن تمثل للفيزياء الكلاسيكية ببساطة، وأكبر من أن توصف بالتطبيق المباشر لميكانيكا الكم. إنها تُظهر خواص غير متوقعة في أغلب الأحيان، ويمكن تعديل هذه الخواص في كثير من الأحيان من خلال تغيير "فقط" حجم الجسيمات. ولقد استفادت الطبيعة من التراكيب النانوية للمليارات السنين. وهاتان الخاصيتان اللتان جعلتا الجسيمات النانوية جذابة للتطبيقات الطبية هما: (i) كون الحجم "مثالياً" للأجسام البيولوجية. (ii) إمكانية تعديل خواصها بتغيير حجمها.

ولقد فتحت التطورات المذهلة في مجال تقنية النانو (الجسيمات النانوية، والأغشية النانوية، والأنابيب النانوية،... إلخ) على مدى السنوات الماضية الآفاق نحو تغييرات جذرية في أسلوب الأجهزة، والمواد والأنظمة المصنعة. ومن المتوقع أن تغطي

هذه الظاهرة الجديدة مختلف فروع العلم، بما في ذلك الكيمياء، والفيزياء، وعلم الأحياء، والطب، والهندسة لتحسين نوعية الحياة بعدة رتب عظيمة [1]. ومن بين الأشكال المختلفة للمواد النانوية، هناك إمكانية هائلة لتطبيق الجسيمات النانوية في مجال الطب الحيوي، كما وصفت ذلك العديد من البحوث المنشورة على مدى السنوات القليلة الماضية. وبعض التطبيقات الطبية الحيوية للجسيمات النانوية الوظيفية التي هي الآن قيد الدراسة المكثفة من قبل عدة مجموعات بحثية، هي: (i) حساسات للكشف عن التفاعلات الجزيئية الحيوية [2]. (ii) علاج السرطان باستخدام العقاقير المغناطيسية المستهدفة [3]. (iii) عوامل التباين في التصوير بالرنين المغناطيسي [4]. (iv) ناقلات مغناطيسية لفصل الخلية، وتثبيت الإنزيمات، وتنقية الدم خارج الجسم [5]. وتُشكل الجسيمات النانوية المغناطيسية القاعدة لكل هذه التطبيقات، ويعتمد النوع الآخر من التطبيق على توظيف الجسيمات النانوية.

لقد بين استقصاء شامل للدراسات البحثية السابقة، عدم وجود استعراض بحثي كامل للأبحاث الموجودة حسب علم المؤلفين، على الرغم من توافر العديد من المنشورات البحثية بشأن تطبيق الجسيمات النانوية في علاج السرطان والتشخيص. ويركز هذا الاستعراض على كيفية استخدام الجسيمات النانوية كناقلات في العلاج الكيماوي للسرطان. والدراسات البحثية المتعلقة باستخدام اللايبوسومات، والغرويات، أو الدينديرميرات، تكون خارج نطاق هذا الاستعراض، مثلما يكون تطبيق الجسيمات النانوية في تشخيص مرض السرطان [FettU].

١١،٢ السرطان: المرض الفتاك والأساليب الحالية لعلاج

Cancer: A Fatal Disease and Current Approaches to Its Cure

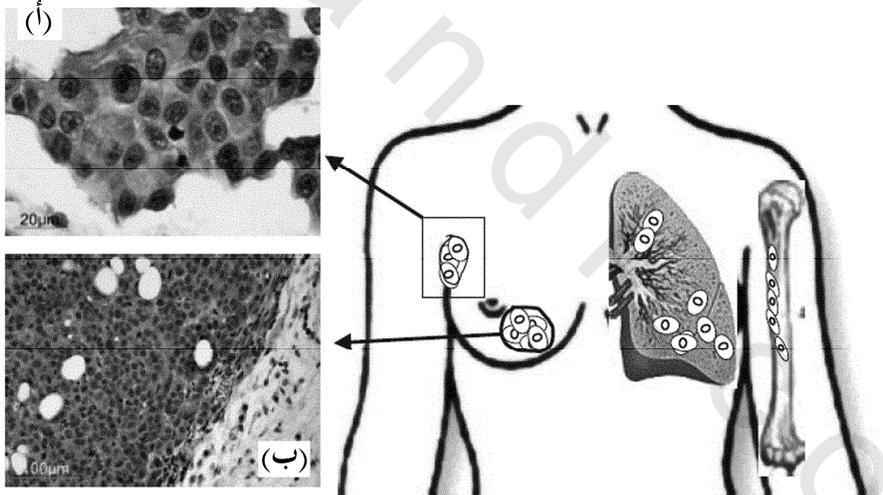
إن السرطان يعد السبب الرئيس الثاني للوفاة في الولايات المتحدة >> ١،
يحصد ما مجموعه ٥٥٣.٧٦٨ روحاً في السنة. وعلى الرغم من الاكتشافات الجديدة

للعقاقير ولتركيبات علاج السرطان، إلا أن معدل الوفيات لم يتغير خلال السنوات الثلاث والخمسين الماضية. ومع ذلك، فقد ارتفع معدل البقاء العام على قيد الحياة بنسبة ١٣٪ منذ عام ١٩٧٤، وذلك بسبب تقنيات التشخيص الأكثر حساسية، وطرائق الكشف المبكر. ومن المتوقع أن يتم تشخيص عدد المصابين بالسرطان على النحو التالي ٦٩٩,٥٦٠ من الرجال و٦٦٨,٤٧٠ من النساء بحلول عام ٢٠٠٤، ومن المتوقع أن تبقى على قيد الحياة نسبة ٦٤٪ [6].

والسبب الثاني المؤدي للوفاة بالسرطان، هو سرطان غدة البروستاتا في الرجال، وسرطان الثدي في النساء. كل من هذين السرطانين يُنميان بمجموعات مختلطة من الخلايا المعتمدة على هرمون (الاستروجين/ الأندروجين / estrogen/ androgen)، والخلايا المستقلة عن الهرمون، والتي تكون ضعيفة للتمييز (للتفريق) بشكل جيد، ولها معدلات انتشار متغيرة. وفي حالات أمراض العضو المحصور، فإن العلاج المفضل، هو استئصال البروستاتا الجذري لدى الرجال، واستئصال الثدي لدى النساء. وبدايةً، يتم معالجة المرضى بالإشعاع و/أو العلاج الكيماوي (سيكلوفوسفاميد cyclophosphamide، دوكسوروبيسين doxorubicin، ٥- فلورويوراسيل 5-fluorouracil، [7, 8]، بالإضافة إلى اجتثاث الهرمون. وعلى الرغم من أن اجتثاث الأندروجين في مرضى سرطان البروستاتا (منبهات LHRH، وليوبروليد leuprolide [9])، يؤدي إلى الحد من الورم الرئيس وتراجعته الجزئي، إلا أن المرض يعاود الظهور مرة أخرى خلال عامين في صورة سيئة ومستقلة عن هرمون الأندروجين، وبعدها لا يتوفر علاج لإطالة حياة المريض [10]. ويتم تحقيق اجتثاث الأندروجين في مرضى سرطان الثدي، عن طريق العلاج بدواء التاموكسيفين tamoxifen [11]، أو باستئصال المبيض. والإزالة الجراحية للورم الأساس، تكون اجتياحية (منتشرة)، ولها آثار جانبية اعتماداً على منطقة الاستئصال والورم، (سواء كانت مغلقة أو منتشرة). وفي أغلب

الأحيان، قد تؤدي إزالة الورم الأساس إلى زيادة انتشار النقائل (انتقال خلايا السرطانية من عضو إلى آخر) metastases، والخلايا الثقيلة الوحيدة، والخلايا السرطانية الساكنة (في طور السبات).

وفي وقت التشخيص، يكون النقائل غامضا بنسبة تصل إلى ٧٠٪ في مرضى سرطان البروستاتا [12]، و٤٠٪ في مرضى سرطان الثدي [13]. ويحدث نقائل العظام والعقد الليمفاوية بنسبة ٢٦٪ من مرضى سرطان البروستاتا [14]، ونسبة ٢٣٪ من مريضات سرطان الثدي [13]. وأكثر من ٧٠٪ من المرضى يموتون بسبب نقائل الهيكل العظمي [15] (الشكل رقم ١١,١).



الشكل رقم (١١,١). يؤدي زرع خلية وحيدة لأورام أولية إلى نقائل العقدة الليمفاوية والعظام. مقطع نسيجي من (أ) نقائل العقدة الليمفاوية من ورم سرطان الثدي الأولي. (ب) ورم سرطان الثدي الرئيس.

إن العلاجات الحالية يمكنها فقط إطالة حياة المرضى، ولكنها لا تعالج المرض. وبسبب السمية العالية، وضعف تخصصية الأدوية المستخدمة حالياً، فإنه من غير

الممكن زيادة جرعات العلاج الكيماوي. في أغلب الأحيان، لا يستجيب المرضى للعلاج الكيماوي في حالة الانتكاسة؛ بسبب مقاومة العقاقير المكتسبة، والتي تقلل من فاعلية العلاج الكيماوي. ولا يمكن استهداف المرض النقيلي الساكن بالعلاج الكيماوي، وانتشار خلايا سرطان الثدي الغامضة في نخاع العظام، هو المسؤول عن انتكاس ما لا يقل عن ثلث المرضى [13, 16, 17].

إن عقاقير العلاج الكيماوي المستخدمة حالياً نشطة نظامياً، ولا تستطيع استهداف الخلايا السرطانية الساكنة بمفردها، والأورام، أو الأورام بطيئة النمو [13, 16, 18]، كما أن معظم عقاقير العلاج الكيماوي ليست انتقائية لخلايا السرطان؛ لذلك تلزم جرعات نظامية عالية للوصول إلى التركيز العلاجي الفعال في موقع الورم، والتي تسبب في إحداث آثار جانبية حادة، وتدمر الأنسجة المحيطة. ومن بين هذه الآثار الجانبية تدمير خلايا نخاع العظام (التي تضعف إنتاج الكريات الحمراء)، والتسمم القلبي cardiotoxicity، والتسمم الكلوي nephrotoxicity، وتسمم الكبد hepatotoxicity، وأمراض تسمم الدم hematotoxicity. إن خلايا نخاع العظام تنتج كريات الدم الحمراء لنقل الأوكسجين، لذلك يصاب المرضى بفقر الدم (بالأنيميا)، نتيجة لتدمير نخاع العظام. وتشمل أمراض تسمم الدم، تدمير الصفائح الدموية اللازمة لتجلط (تخثر) الدم، والكريات البيضاء اللازمة لمقاومة الالتهابات. وتتضمن الآثار الجانبية الفورية الغثيان، وداء الثعلبية، والإعياء. أما الآثار طويلة الأمد، فهي زيادة القابلية للعدوى بسهولة، والتي تستمر حتى يتعافى الجهاز المناعي من العلاج الكيماوي (٤-٦ أسابيع).

تتداخل معظم عقاقير العلاج الكيماوي مع آلية انتشار الخلايا السرطانية. فالسيكلوفوسفاميد (سايتوكسان Cytosan)- على سبيل المثال- يدمر المادة الجينية التي تتحكم في نمو الخلايا السرطانية. وتتداخل مضادات الأيض، مثل الميثوثريكسات و٥-

فلورويوراسيل (5FU) مع انقسام الخلايا السرطانية. كما تمنع الكواشف المضادة للأنبيبات الدقيقة انقسام الخلايا، من خلال العمل على الأنبيبات الدقيقة microtubules، ومن بين تلك المضادات: باكليتاكسيل (تاكسول) (Taxol) paclitaxel، ودوكيتاكسيل (تاكسوتير) (Taxotere) docetaxel، وفينكريستين (أونكوفين) vincristine (Oncovin)، وفينبلاستين (فيلبان) (Velban) vinblastine. والدوكسوروبيسين (أدريمييسين) (Adriamycin) Doxorubicin هو مضاد حيوي للورم. ولكي تكون هذه العقاقير فعالة، فإنها تحتاج لأن تتراكم داخل الخلايا السرطانية.

إن جرعة عالية من العلاج الكيماوي، لا تعني بالضرورة علاج المريض، فالعديد من المرضى يعانون حالات الانتكاس. ويحدث ظهور للسرطان من جديد بعد جرعة عالية من العلاج الكيماوي، وغالباً ما تظهر عدم استجابة لمزيد من العلاج الكيماوي، والذي يؤدي بدوره إلى مرض نهائي، حتى بعد عدة سنوات من الشفاء الظاهري من المرض. وهذه الظاهرة معروفة باسم مقاومة العقاقير المتعددة، وتنسب إلى آليات متعددة [19, 20].

معظم أنواع السرطان، مثل سرطان القولون، والكلى، وسرطان الثدي، والمبيض، والبروستاتا، وسرطان الرئة؛ تُنتج بإفراط جين بارا- جليكوبروتين p-glycoprotein، (والمعروف أيضاً باسم جين مقاومة العقاقير المتعددة). ومنتج جينه هو بارا- جليكوبروتين Pgp البروتين، الذي يوجد في الأغشية، والجهاز الجوليجي Golgi apparatus، والنواة [21, 22]. والبارا- جليكوبروتين (Pgp) يعد مضخة دفع (دفع) عبر الأغشية التي تفرز بفعالية العقاقير السامة للخلايا من التركيب الجزيئي المختلف، من خلال آلية إنزيم تحلل ثلاثي فوسفات الأدينوسين (ATP) [23]، مخفضة بذلك تراكيز العقار داخل الخلايا. وقد تم الإعلان عن مُغيرات (مُعدلات) لمضخات البارا- جليكوبروتين Pgp تشمل الفيراباميل verapamil، وهو مركب يتنافس

مع مضخة دفع العقار. وأثناء التفاضل (التمييز) والتقدم، قد تكتسب الخلايا السرطانية القدرة على إزالة العقاقير المدارة من خلال هذه الآلية للمضخة. وتتضمن الآليات الأخرى تعديل الفعاليات الإنزيمية، مثل إنزيم درجة تحلزن الحمض النووي topoisomerase، أو نشاط إنزيم اختزال S-جلوتاثيون glutathione S-reductase، وتنظيم موت الخلايا المبرمج المعدل، ونقل معدل، أو تغيير توزيع العقار داخل الخلايا؛ نتيجة لزيادة عزل الحويصلات السيتوبلازمية [24].

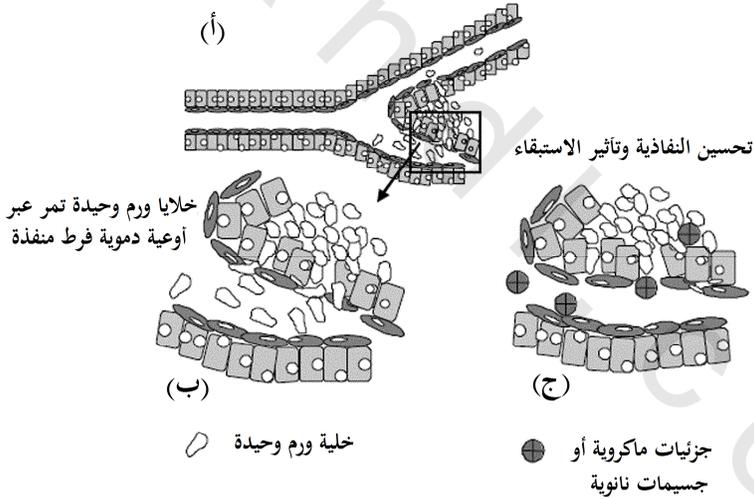
إن خطورة شدة الآثار الجانبية للعقاقير خلال تعاطي العلاج الكيماوي، هي حدوث مقاومة العقاقير المتعددة، والتي تظهر كمرض لا يستجيب أو مقاوم لعقاقير العلاج الكيماوي.

١١,٣ خصائص أنسجة الورم

Characteristics of Tumor Tissues

يتكون نسيج الورم من تراكيب مختلفة ومناطق يمكن أن تشغل فيها الخلايا السرطانية الفعلية أقل من ٥٠٪، والأوعية الدموية ١-١٠٪، ويتكون التركيب الباقي من مصفوفة كولاجين غنية. وقد كشف التقييم النسيجي للأورام المستأصلة عن مناطق تنمو بسرعة تتخللها مناطق نخرية [25]. وتنمي الأورام شبكة شعرية ملتوية فوضوية، يمكن تمييزها عن الأوعية الدموية الطبيعية التي تتبع نمط تفرع هرمي [26]. وغالباً ما تكون الأوعية الدموية الشعرية في الأورام مصحوبة بانسداد ناجم عن التكاثر السريع للخلايا السرطانية. ويسبب ضغط الأوعية الدموية [27] نقص الأكسجة hypoxia، وفي نهاية المطاف نخر الخلايا السرطانية القابلة للتكاثر، وعلى عكس الأنسجة الطبيعية، غالباً ما تفتقر الأورام إلى جهاز ليمفاوي وظيفي. وبالإضافة إلى ارتفاع نسبة انتشار الخلايا البطانية (الغشائية)، يُظهر ورم الأوعية الدموية أغشية الطبقة التحتية الشاذة، وتختلف أوعية الورم الدموية عن الأوعية الدموية الطبيعية في كونها أكثر نفاذية، بنسبة

تصل إلى ٣-١٠ مرات [28]، وذلك لمواجهة متطلبات التغذية والأكسجين المرتفعة للورم سريع النمو [29] الشكل رقم (١١،٢). ويتم نقل الجزيئات الضخمة والعقاقير إلى الخلايا السرطانية من خلال وصلات بطانية بينية، وعضيات حويصلية بثرية vesicular vacuolar organelles وثقوب. وقد أُعلن عن مدى حجم قطع المسام في نسيج الورم فيما بين ١٠٠ و ٧٨٠ نانومتر [30, 31]. وأكد هذا المدى بالقياسات التي أُجريت داخل الجسم من خلال مجهر التآلق (التفلور) [32]. ويمكن زيادة حجم المسام إلى حدود ٨٠٠ نانومتر عن طرق الرش بجرعات منخفضة (١٠ ميكروجرام /مل)، من عامل نمو بطانة الأوعية الدموية (VEGF) في أورام القولون البشري [33].



الشكل رقم (١١،٢). (أ) أوعية دموية طبيعية مع جزء من نسيج سرطاني (مربع). (ب) خلايا ورم واحد تمر من خلال الأوعية الدموية فرط منفذة. (ج) تحسين النفاذية وتأثير الاستبقاء. الدوائر الرمادية تمثل جسيمات نانوية أو جزيئات ماكروية.

وفي نموذج الفأر الذي يحمل طعم سرطان القولون البشري، تم فحص الانصباب الدموي (التناضح) من الليبوسومات المستقرة بالبولي إيثيلين جليكول بأقطار من ١٠٠ و ٤٠٠ نانومتر. إن رش عامل نمو بطانة الأوعية (VEGF)، يزيد تردد المسام ٤٠٠ نانومتر في أوعية الورم الدموية، ويزيد عدد مسارات الأوعية الناقلة، والوصلات المفتوحة، والثقوب (الفتحات). وللمقارنة، يكون قطر بطانة الأوعية الدموية الطبيعية أقل من ٢ نانومتر، وفي وريادات ما بعد الأوعية الشعرية ٦ نانومتر، ومن ٤٠-٦٠ نانومتر في كيببات الكلى، و١٥٠ نانومتر في ظهارة جيبية من الكبد والطحال.

١١,٤ توصيل العقاقير إلى الأورام

Drug Delivery to Tumors

تحتوي المنطقة الخلاقية للورم على شبكة من الكولاجين والألياف المرنة، والمغموسة (أو المغمورة) في هيالورونات hyaluronate، وسائل يحتوي على بروتيوغلايكان proteoglycan. إن الضغط الخلافي داخل نسيج الورم مرتفع نتيجة للافتقار إلى جهاز تصريف ليمفاوي [34, 35]. ويعتقد أن زيادة الضغط الخلافي ونمو الخلايا الشاذة السريع، هما المسؤولان عن انسداد الأوعية الدموية والليمفاوية في الأورام الصلبة وضغطها [25]، وإعاقة الانصبابات الدمية، وتراكم الأدوية في نسيج الورم.

يعتمد نقل العقار داخل منطقة الورم على الضغط الخلافي، وكذلك على تكوينها، وشحنتها، وخصائص العقار (عدم الألفة المائية، الحجم) [36]. ويكون الضغط الخلافي أعلى بكثير من الضغط داخل الأوعية الدموية [37]، بالإضافة إلى أن التراص الكثيف للخلايا السرطانية يقيّد حركة الجزيئات من الوعاء الدموي إلى المنطقة

الخلالية [38]. وعلى سبيل المثال، فجسيمات غروية بحجم أكبر من ٥٠ كيلو دالتون (kDa)، تدخل المنطقة الخلالية من خلال رشح الأوعية الدموية والتراكم في نسيج الورم. ويطلق على هذه الظاهرة اسم تأثير الاستبقاء والنفاذية المحسنة (EPR). ويتميز تأثير الاستبقاء والنفاذية المحسنة (EPR) بتراكم العقار في النسيج الخلالي interstitium، متجاوزاً تركيز العقار في البلازما [39, 40]، ومن ثم يُعيق بدوره انتشار العقار داخل المنطقة الخلالية.

عدم استجابة الورم للعقار (مقاومة العقاقير المتعددة)، قد تكون نتيجة لضعف مناطق الورم الوعائية، وقلة تراكم العقار في خلايا الورم بتركيز فعال علاجياً. وتفاعل الجزيئات الكبيرة (العقار) مع البلازما، يمكن أن يُخمد العقار بالتحلل أو بالتميو (بالحمأة). وتستطيع كذلك البيئة الحمضية للورم أن تُخمد جزيئات قاعدية عن طريق التآين، وبالتالي تمنع انتشارها عبر غشاء الخلية، وتستطيع العقاقير المعدلة أن تطلق فعاليتها العلاجية. ولا يمكن تجنب هذا بزيادة جرعة العقار المدار للوصول إلى تركيز البلازما العلاجي الفعال؛ لأن معظم العلاجات الكيميائية عالية السمية، وتؤدي إلى الآثار الجانبية الشاملة الحادة.

من الواضح أن تركيز العقار العلاجي الفعال اللازم في أنسجة الورم من الصعب تحقيقه والمحافظة عليه؛ بسبب خصائص الأوعية الدموية والليمفاوية لنسيج الورم. إن دمج العلاجات الكيميائية وتقنية الجسيم النانوي، يمكن أن يقلل بعض المشاكل المرصودة حالياً، والتي يتم مواجهتها بأنظمة المعالجة المنهجية، مثل حماية العقار من التحلل، وزيادة ذوبانية العقاقير المحبة للدهون، وزيادة التخصصية للعقاقير، والتحليل على مقاومة العقاقير المتعددة.

١١,٥ الخواص الفيزيوكيميائية للجسيمات النانوية في علاج السرطان

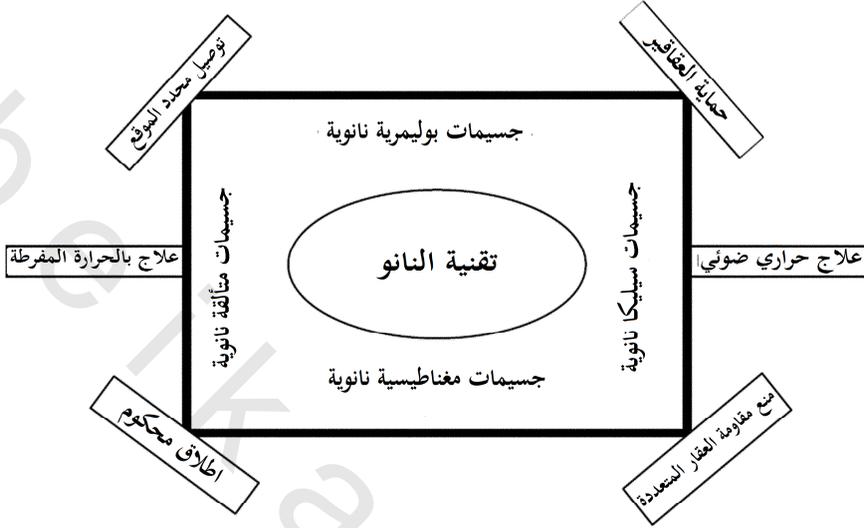
Physicochemical Properties of Nanoparticles in Cancer Therapy

إن الجسيمات النانوية تعد جسيمات كروية، سواء كانت مجردة أو وظيفية، بمقياس أقل من ١٠٠ نانومتر في بعد واحد على الأقل. وليس من المستغرب أن تكون لتلك الجسيمات النانوية تضمينات في الأنظمة البيولوجية بصفة عامة، وفي أنظمة توصيل العقاقير بصفة خاصة؛ نظراً لأن معظم الخلايا تكون ذات قطر يتراوح من ١٠,٠٠٠ - ٢٠,٠٠٠ نانومتر. كما تستطيع الجسيمات النانوية دخول الخلايا، حتى المناطق النووية، وتتفاعل مع الحمض النووي DNA والبروتينات الخلوية. ويمكن تصنيع الجسيمات النانوية بأحجام مختلفة، وبتعديلات سطحية تحدد خواصها في الأنظمة البيولوجية، فالجسيمات بحجم أقل من ١٠٠ نانومتر، تمتلك أزمدة دوران أطول، ومساحات سطح فعالة كبيرة، ومعدلات ترسب منخفضة، وتعرض إمكانية انتشار محسنة، ويتم استيعابها بسهولة في خلايا الورم من خلال مسام الغشاء، ويجب تجنب تكتل الجسيمات النانوية لمنع تجلط الدم [41]. وللجسيمات الصغيرة حرية الوصول إلى الشعيرات الدموية، وتكون أكثر مقاومة للامتصاص بواسطة الخلية البلعمية الكبيرة للجهاز الشبكي البطاني [42-44].

وتحتاج إمكانية تطبيق الجسيمات النانوية لعلاج السرطان إلى مواجهة التأثيرات المناوئة من الأساليب العلاجية الكيماوية الحالية الموصوفة في المقطع السابق. وعموماً، فلدى الجسيمات النانوية القدرة على تحسين توصيل عقار السرطان، وتوفير الأدوات اللازمة لـ:

- توصيل التركيز الدوائي المطلوب من العقار.
- زيادة تركيز العقار في الموقع المستهدف، من خلال الإطلاق الممتد أو المتحكم فيه.
- التغلب على مقاومة العقاقير المتعددة.

- القضاء على الآثار الجانبية للأعضاء الحيوية في الجسم ، وذلك بالحد من التعرض الشامل.
 - تجنب الاستجابة المناعية والسمية للدم.
 - تدمير الخلايا الخبيثة على وجه التحديد ، وتجنب الخلايا الطبيعية من الإصابة.
 - قتل الأورام الأولية التي لا يمكن الوصول إليها عن طريق الجراحة.
 - تدمير السرطان المصنف ، والخلايا الساكنة والنقائل.
 - حماية الدواء الفعال من التغيير والإخماد.
 - اكتشاف السرطان في مرحلة مبكرة.
- ويلخص الشكل رقم (١١،٣) أنواعاً مختلفة من جسيمات نانوية لديها القدرة على تحسين السمات المختلفة لعلاج السرطان. ويمكن تصنيف الجسيمات النانوية التي يجري تطويرها حالياً لعلاج السرطان إلى أربع مجموعات ، هي :
- جسيمات نانوية مغناطيسية.
 - جسيمات نانوية بوليمرية.
 - جسيمات نانوية متألقة (متفلورة) أو نقاط الكم.
 - جسيمات سيليكات.
- ويمكن تصنيف بعض العناصر المهمة لعلاج السرطان المتأثرة بالجسيمات النانوية على النحو التالي :
- توصيل محدد الموقع للعقاقير.
 - تحكم في إطلاق العقاقير.
 - حماية عوامل مضادات السرطان أو العقاقير.
 - علاج باستخدام الحرارة المفرطة (الحرارة الزائدة) hyperthermia .
 - منع مقاومة العقاقير المتعددة.



الشكل رقم (١١،٣). تطبيقات تقنية النانو لمعالجة وتوصيل عقار السرطان.

- والعوامل المهمة لتطبيق الجسيمات النانوية داخل الجسم *in vivo*، والتي ينبغي أن تؤخذ بعين الاعتبار في اختيار المواد وتصنيع الجسيمات، هي:
- التوافقية الحيوية للجسيمات والأغلفة.
 - حجم الجسيمات.
 - الاستمناعية (محفزات المناعة) immunogenicity.
 - خواص السطح.
 - خواص التحلل (الانحلال).
 - ساعات التحميل والإطلاق للعقار.
 - استقرار العقار خلال التغليف (الكبسلة).
 - تخزين الجسيمات النانوية المصنعة واستخدامها.

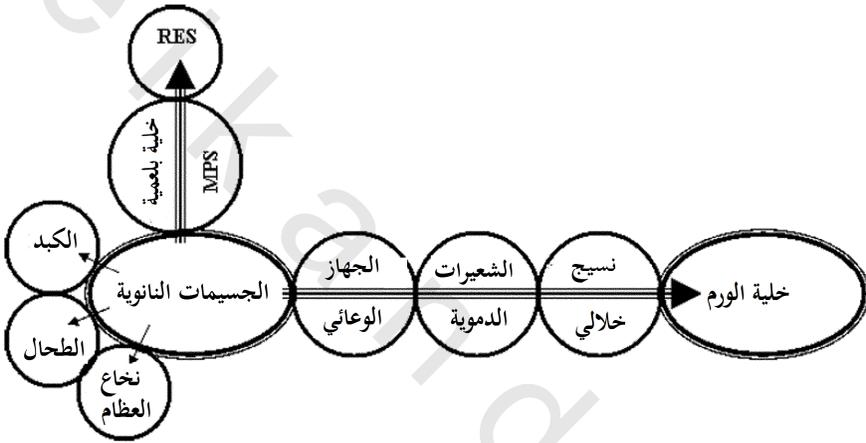
١١,٥,١ مسارات سريان الجسيمات النانوية داخل الجسم

In Vivo Circulation Pathways of Nanoparticles

يتم تغليف الجسيمات النانوية المحقونة في الأنظمة البيولوجية سريعاً ببروتينات البلازما، مثل الكريينات المناعية immunoglobulins، والفايبرونكتين fibronectin، وتجمعات (ركام) البنية. وتدعى هذه العملية تغليف (تغليف المادة لتسهيل بلعها) opsonization. ويتم تمييز الجسيمات المغلفة من قبل الجهاز الشبكي البطاني (RES)، أو نظام البلعميات مفردة النوى mononuclear phagocytic system (MPS)، والذي يشمل على خلايا بلعمية كبيرة مرتبطة بالكبد (خلايا كوبفير Kupffer cells)، والطحال، والغدد الليمفاوية (خلايا بلعمية كبيرة حول الأوعية)، والجهاز العصبي (خلايا عقدية دقيقة microglia)، والعظام (خلايا مدمرة للعظام osteoclasts) [45, 46]. والجهاز الشبكي البطاني (RES)، هو نظام دفاعي، يتضمن إلى حد كبير خلايا بلعمية مشتقة من نخاع العظام، وتنقل هذه الخلايا في النظام الوعائي ككريات وحيدة، وتستقر في أنسجتها الخاصة.

تستوعب هذه الخلايا البلعمية الكبيرة [47] الجسيمات النانوية المغلفة خلال البلعمة، وتسلمها إلى الكبد، والطحال، والكليتين، والعقدة الليمفاوية، ونخاع العظام (الشكل رقم ١١,٤). وقد تحدث هذه الإزالة خلال فترة زمنية، تتراوح من ٠,٥ - ٥ دقائق [48]، وبذلك يتم إزالة الجسيمات النانوية النشطة من الدوران، ومنع وصولها إلى نسيج الورم. إن تغليف الجسيمات النانوية واختزال حجمها لأقل من ١٠٠ نانومتر، يمكن أن يخفيها، ولا يمكن تمييزها حينئذ من قبل نظام البلعميات مفردة النوى MPS، وتستمر في الدوران لفترة أطول [49]. وبدلاً من النسيج الطبيعي، فتدخل مثل هذه الجسيمات النانوية الأورام بشكل تفضيلي، وذلك من خلال أوعيتها الدموية المنفذة جداً [50]، والتي يمكن أن تنظم بجرعات منخفضة من عامل نمو بطانة الأوعية

[33]، وتتراكم الجسيمات النانوية في المنطقة الخلالية للأورام. إن استبقاء الجسيمات النانوية، يرجع أساساً لنقص الإزالة الليمفاوية في نسيج الورم (تأثير EPR) [39, 40, 51]. وإذا كانت الجسيمات النانوية تتحلل حيويًا في النسيج الخلالي، فإن العقار يستطيع أن ينطلق (يتحرر)، ويدخل خلايا الورم من خلال الانتشار.

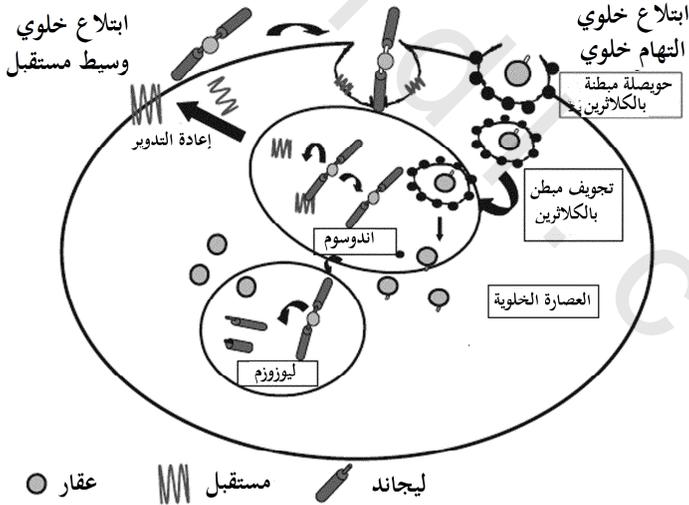


الشكل رقم (٤، ١١). توزيع ومسالك الجسيمات النانوية بعد حقنها.

إن آليات الامتصاص الخلوي للجسيمات النانوية والجزيئات الكبيرة، هي الالتهام الخلوي pinocytosis [52]، والابتلاع الخلوي endocytosis [53]، وابتلاع خلوي وسيط مستقبل receptor-mediated endocytosis [55] (الشكل رقم ١١، ٥). والجزيئات الكبيرة والحمض النووي DNA يكونان عرضة للتحلل الليزوزومي lysosomal، ويمكن توصيلهما بالجسيمات النانوية التي تغلت من التحلل الليزوزومي. ويتم نقل جسيمات حمض جليكوليك بولي لاكتيد Polylactide glycolic (PLGA) بشكل غير متخصص إلى داخل الخلايا، وذلك عن طريق ابتلاع خلوي الطور السائل، وهي عملية وسيطة تجرى ببروتين كلاثرين clathrin (الشكل رقم ١١، ٥). وفي

مدى الرقم الهيدروجيني pH من ٧-٧,٥ (الرقم الهيدروجيني الفسيولوجي)، يتم نقل جسيمات حمض جليكوليك بولي لاكتيد النانوية المشحونة سالباً إلى الإندوسومات (فجوات الابتلاع الداخلية) الابتدائية، وتصبح موجبة الشحنة، وتدخل الإندوسومات الثانوية الحمضية والليوزومات، ومنها تهرب الجسيمات النانوية إلى داخل مكونات سيتوبلازم الخلية (العصارة الخلوية) cytosol. والجسيمات النانوية المنتقلة إلى الإندوسومات مبكراً أو أولاً، تدخل الإندوسومات الثانوية، وتصبح كاتيونية، ويطلق التفاعل الموضعي مع الغشاء الجسيمات إلى السيتوبلازم، وتهرب من المنطقة الليوزومية [56].

آلية الامتصاص الخلوي



الشكل رقم (١١.٥). آليات امتصاص الدواء في خلايا الورم: البلعمة، تجويف مغلف بالكلاثرين، والابتلاع الخلوي، وتوصيل مستهدف عن طريق ابتلاع وسيط مستقبل.

١١,٥,٢ معالجة سطح أو تغليف الجسيمات النانوية

Surface Treatment or Coating of Nanoparticles

خلال التغليف بمصفوفات قابلة للتحلل، تصبح الجسيمات النانوية "غير مرئية" للخلايا البلعمية الكبيرة. واختيار مصفوفات محبة أو كارهة للماء بالنسبة للتغليف، يحدد مصير الجسيمات النانوية، فالتغليف المحب للماء، يمنع تفاعل الجسيمات النانوية مع الخلايا البلعمية الكبيرة للجهاز الشبكي البطاني RES، ويخفض إزالتها من الدوران، ويزيد من عمر النصف لدورانها [57-59]. ويتم تطبيق التغليف الكاره للماء؛ لزيادة تغليف سهل البلع؛ مما يؤدي إلى تفاعل غزير بالخلايا البلعمية الكبيرة، ولذلك يتم إزالة الجسيمات النانوية بسرعة من الدوران. ويتم تطبيق الأسلوب الأخير لتوصيل مستهدف من الجسيمات النانوية إلى الجهاز الشبكي البطاني RES للكبد والطحال.

إن الأغلفة المحبة للماء، هي ديكستران [60]، والبولي إيثيلين جلايكول [61]، وبولي إيثيلين أكسيد (PEO)، وبولوكساميرات poloxamers، وبولوكسامينات poloxamines [62]، والسيليكونات [59, 60, 63]. وتؤدي طلية البولي إيثيلين أكسيد (PEO) إلى فترة دوران محسنة للجسيمات [64]، وتغليف سهل البلع مخفض [65, 66]. لقد بين إشيواتا Ishiwata وزملاؤه أن طلية البولي إيثيلين جلايكول (PEG) أدت إلى إخماد تفاعل الخلية البلعمية الكبيرة [67].

ويبدو مفهوم تغليف الجسيمات واعداءً، بالرغم من حاجة التطبيقات داخل الجسم لأن تكون مثالية. واختيار بوليمر التغليف يمكن أن يطيل عمر النصف للجسيمات في الدوران. وقد أظهرت كرات البولي ميثيل ميثا أكريلات (PMMA) النانوية، المغلفة ببولي أكرامير 407 أو بولوكسامين 908 استبقاءً وتراكماً متزايداً في B16 وأورام متو Mtu في الفئران [68]. وعلى أية حال، فالبولي ميثيل ميثا أكريلات غير قابل للتحلل الحيوي، وليس له أي استعمال آخر في الجسم الحي.

وقد تم إقران البوليمرات المشتركة المحبة للماء والدهون، مثل حمض البولي لاكتيك، بولي إيبسون-كبرولاكتون ploy ε-caprolactone، والبولي سيانو أكريلات مع البولي إيثيلين جلايكول (PEG) [69-71]، ويبدو أن لديها ملامح دوران عالية، ولم يتم استخدامها لاستهداف الورم إلى الآن.

١١,٥,٣ بوليمرات للكبسلة (للتغليف) Polymers for Encapsulation

يمكن تحضير الجسيمات النانوية كحاملات للعقاقير في أسلوبيين مختلفين. أحدهما يكون بمثابة خزان للعقار، يتكون من قلب زيتي بمثابة ناقلة تحمل العقار، وطبقة أساسية خارجية بوليمرية بالغللاف. وتكون الناقلات عبارة عن زيوت نباتية ودهون ثلاثية، أو زيت بذرة القطن. وفي الأسلوب الثاني، تكون الجسيمات عبارة عن كرات (مجالات كروية) نانوية يُنشر (يُشتت) فيها العقار في مصفوفة بوليمرية. ويمكن تحضير الجسيمات النانوية والكرات النانوية من بوليمرات اصطناعية قابلة للتحلل الحيوي، مثل البولي فينيل بيروليدون (PVP) [72]، والشيتوزان [73]، أو البولي الكيل سيانو أكريلات والبولي لاكتيدات [74-77]، ومثل البولي أيزوهيكسل سيانو أكريلات (PIHCA)، والبولي إثيل سيانو أكريلات، والبولي إيزوبيوتيل سيانو أكريلات (PIBCA). ويتحلل حمض جليكوليك بولي لاكتيد PLGA- الذي تم الموافقة عليه من قبل هيئة الغذاء والدواء للتطبيق البشري- ببطء ويطلق العقار، ولذلك يستخدم للإطلاق المتحكم فيه. ويتم أيضاً نواتج التحلل، وهي أحماض الجليكوليك واللاكتيك خلال دورة كريبس Krebs. والبولي ميثيل ميثا أكريلات PMMA، هو بوليمر غير قابل للتحلل الحيوي، ولذلك يكون غير مناسب للحقن في الجسم الحي. ولقد تم وصف تحضيرات الكبسولات النانوية وتوصيفها من قبل بويسياكس Puisieux، وكوفرير Couvreur وآخرين [75-77]. واعتماداً على طريقة التحضير، تم تحضير كبسولات نانوية بأحجام مختلفة. وتكمن فائدة البوليمرات الاصطناعية القابلة

للتحلل في حقيقة أن معدل التحلل يمكن توقعه ومعالجته باختيار تركيب البوليمر المشترك.

إحدى أهم خصائص الجسيمات النانوية قدرتها على تغليف (كبسلة) العقاقير، وهذه الميزة يمكن أن تخفف التعرض الشامل، وتنقل تراكيز فعالة علاجياً من الدواء إلى منطقة الهدف. نموذجياً، تُدار العقاقير المضادة للسرطان نظامياً في جرعات عالية لضمان الوصول للتركيز الفعال علاجياً في موقع الورم. وعموماً، تكون جرعات من العلاجات الكيميائية في مدى ١٠٠ ميكروجرام؛ وأحياناً تصل إلى ١ جرام في اليوم. لقد تم تطوير عدد من أجهزة توصيل العقار خلال السنوات الثلاثين الماضية، والتي تتراوح ما بين حجم كبير (١م)، وحجم ميكروي (١٠٠-٠,١ ميكرومتر)، وحجم نانوي [78, 79].

قد تتغير الجزيئات الضخمة أو العقاقير أثناء التعرض للبلازما، وهكذا تفقد فعاليتها، ويؤدي التعرض المنهجي إلى آثار جانبية حادة، بينما تدمر العقاقير أنسجة غير خبيثة. وتقدم كبسلة العقاقير الحل لحماية العقار، وقد تُحسّن كبسلة العقار في بيئة محبة للدهون ذوبانية العقار المحب للدهون، وتخفف الآثار الجانبية الحادة الشاملة. وقد تم اختبار الليبوزومات أو الجسيمات النانوية البوليمرية أو الكبسولات النانوية خارج الجسم وداخله؛ لقدرتها على احتواء العقار أو الحمض النووي DNA، كما تم فحص قدرتها على توصيل العقاقير.

١١,٦ توصيل عوامل العلاج الكيميائي لموقع محدد باستخدام الجسيمات النانوية

Site-Specific Delivery of Chemotherapeutic Agents Using Nanoparticles

إن استخدام الجسيمات النانوية لتوصيل العقاقير إلى الأورام، توفر إمكانية جذابة لتفادي العقبات التي تحدث أثناء التعاطي النظامي التقليدي للعقار. ومع ذلك، تدخل عقبات جديدة لحيز التنفيذ، عندما يتم إدخال الجسيمات النانوية في النظام. إن

طريقة التعاطي، وحجم الجسيمات، والأغلفة القابلة للتحلل، والأغلفة المقبولة بيولوجياً، وخواص الابتلاع الخلوية، وتكوين الجسيمات، والاستقرار في الملوحة الفسيولوجية؛ كلها تُحدد مصير الجسيمات النانوية. كما ينبغي ألا تتكثل الجسيمات النانوية المحقونة في الأنظمة البيولوجية، من أجل تفادي تجلط الدم، وامتصاص الخلية البلعمية الكبيرة. ويمكن تحقيق تحسين تراكم الجسيمات النانوية على الهدف، عن طريق ربط ليجاندات إلى سطح الجسيمات النانوية، أو في حالة الجسيمات النانوية المغناطيسية، باستخدام مجال مغناطيسي خارجي لتركيزها في منطقة الأورام. ويمكن أن توجه الجسيمات النانوية إلى الأورام بالاستهداف الفعال أو السلبي. ويتضمن الاستهداف السلبي معالجة بارعة للحجم، و/ أو عدم الألفة المائية، أو غيرها من الخصائص الفيزيائية الكيميائية، ويمكن تطبيقها لتستهدف الجهاز الشبكي البطاني RES؛ ويتضمن الاستهداف النشط توجيه الجزيئات المغناطيسية باستخدام حقل مغناطيسي خارجي، أو باستخدام جسيمات نانوية مترافقة لليجاند. وتقدم الخلاصة التالية أمثلة للتطبيق داخل الجسم من الجسيمات النانوية بأغلفة ومواد مختلفة. ولم يتم مناقشة غرويات (مذيلات) البوليمر المعقدة (المتراكبة) في هذا الاستعراض.

١١,٦,١ الاستهداف السلبي Passive Targeting

لقد تم تطوير أنظمة الجسيمات النانوية القابلة للتحلل الحيوي؛ لاستهداف الجهاز الليمفاوي، ويمكن استغلال هذا لتوصيل العقاقير إلى العقد الليمفاوية، وتدمير نقائل العقدة الليمفاوية، ومنع حدوث المزيد من التقدم النقلي. ويمكن تحقيق استهداف الأنظمة الليمفاوية؛ (لتجنب تحلل العقار الكبدي)، باستخدام طرائق مختلفة للتعاطي، منها: داخل العضلة، وتحت الجلد، وداخل البريتون (الصفاق)، أو عن طريق الفم. إن تغليف الجسيمات النانوية مفيد لتحسين زمن دورانها، وتجنب التعرف عليها من قِبَل نظام البعثيات مفردة النوى MPS؛ مما يؤدي إلى زيادة امتصاصها

وتراكمها في الورم؛ ولذلك يمكن أن تصل الجسيمات النانوية طويلة الدوران إلى أهداف خارج نظام البعثيات مفردة النوى MPS [80]. ويتم الإشارة إلى أهمية مواد التغليف المختلفة وتأثيراتها في الاستهداف السلبي في الأمثلة التالية.

١١,٦,١,١ استهداف الغدد الليمفاوية بالجسيمات النانوية

Targeting Lymph Nodes with Nanoparticles

إن التغليف الكاره للماء يُحسّن تراكم العقدة الليمفاوية أكثر؛ لأنه يتم إدراج الجسيمات النانوية بنظام البعثيات مفردة النوى MPS، وتوصيلها إلى العقد الليمفاوية. وتم تعاطي جسيمات البولي أكريل سيانو أكريلات المحملة بالأنسولين عن طريق الفم للجرذان، وتم إدراجها في النظام الليمفاوي عن طريق بقع باير Peyer في بطانة الأمعاء [81].

لقد تم مقارنة السلوك والتوزيع الحيوي للجسيمات النانوية ومستحلبات فوسفاتيديل-كولين (EPC) البيض أو الفسفوليبيد (PL) كحامل للعقار، وكشفت أن فوسفاتيديل-كولين EPC، والفسفوليبيد PL قد تم إزالتها أسرع من موقع الحقن، وكان زمن الاستبقاء الليمفاوي من ١٧-٢٤ ساعة، مقارنة إلى ١٣١ ساعة في حالة الكبسولات النانوية. وكانت الكبسولات النانوية المغلفة بـ PIBCA أكثر استقراراً في البلازما من جسيمات المستحلب؛ لأن الجسيمات النانوية كانت محمية من التحلل الدهني. وتم إدراج جسيمات الـ PIBCA النانوية إلى حد كبير في الخلايا اللمفية، بينما تم اكتشاف نسبة صغيرة فقط من جسيمات المستحلب في الخلايا الليمفاوية [82].

كما يمكن أن تؤدي الجسيمات النانوية من مواد مختلفة إلى توزيع حيوي مختلف للعقار، ولذلك تُعدّل كفاءات العقاقير. وتم تطوير جسيمات حمض البولي لاكتيك BE كوكوربيتين Cucurbitacin BE النانوية (٤٧-١٢٠ نانومتر)؛ لتوصيلها إلى

العقد الليمفاوية العنقية (لعنق الرحم)، وتم تحميل الجسيمات النانوية بنسبة ٢٣٪ من العقار. ونظراً لأن حمض البولي لاكتيك قابل للتحلل الحيوي، فإن إطلاقه داخل الجسم كان بطيئاً-، واختزل السمية الحادة للـ cucurbitacin بنسبة ٥٠٪ [82, 83].

١،٢،١١ زيادة التوافر الحيوي للمركب

Increasing Bioavailability of a Compound

يتم إفراز المركبات عالية المحبة للماء سريعاً خارج الورم بعد الحقن النظامي؛ ويمكن أن تتفقد فعاليتها، وقد تفقد حتى قدرتها.

إن العلاج بأسر (أو بحصر) نيوترون الجادولينيوم (GdNCT) يمثل علاجاً إشعاعياً على خطوتين. يُصدر الجادولينيوم Gd-157 أشعة جاما نتيجة لتفاعل أسر نيوترونه من مصدر نيوتروني خارجي، والذي يثبط نسيج الورم. والصيغ المتوفرة تجارياً من الجادولينيوم Gd، مثل الماغنيسيست® -Magnevist- محلول مائي ثنائي ميجلومين جادوبنتيتات dimeglumine gadopentetate- تكون عالية المحبة للماء، وضعيفة الاستبقاء في الأورام، ويتم إفرازها سريعاً، حتى بعد الحقن داخل الورم. ولكي تكون فعالة، يجب أن يتم إيصال الجادولينيوم Gd واستبقاؤه في موقع الورم بتراكيز عالية. وتم تصنيع الجسيمات النانوية المحملة بخماسي حمض خل الجادولينيوم gadopentaacetic من شيتوزان بولي لبيتا-(١-٤)-٢-أمينو-٢-ديوكسي-D-جليوكوبيرانوزا [poly[β-(1-4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyr-anose]. ومثلما يحدث لمتعدد السكريات طبيعياً، يكون الشيتوزان قابلاً للتحلل الحيوي، والالتصاق الحيوي، ومتوافقاً حيوياً. ويتم تصنيع الـ Gd-CP النانوي (حيث CP = حمض بنتاتيك الجادولينيوم Gadoliniumpentetic) في جسيمات الشيتوزان النانوية بتقنية التحام قطيرة المستحلب مع جسيم بحجم ٤٢٦ نانومتر، ويحتوي على ٩,٣٪ جادولينيوم Gd. وتدخل جسيمات الـ Gd-CP النانوية إلى خلايا الورم من خلال الابتلاع الخلوي.

وبالمقارنة إلى الماجنيفيست Magnevist ، فإنه تحسّن كثيراً تراكم الجادولينيوم Gd واستبقاؤه، بعامل يصل إلى ٢٠٠ في خلايا سرطان الجلد B16F10 ، وسرطان الخلايا الحرشفية خارج الجسم (في المختبر) SCC-VII [84]. وتم حقن الفئران الحاملة لسرطان الجلد B16F10 تحت الجلد بجسيمات الـ Gd-CP، المحتوية على ١٢٠٠ ميكروجرام جادولينيوم طبيعي داخل الورم. وبعد إجراء التشعيع النيوتروني الحراري في موقع الورم، تم إخماد نمو الورم في المجموعة المدارة بالجسيمات النانوية بدرجة كبيرة، مقارنة بما كان عليه في المجموعة المدارة بمحلول الجادولينيوم gadopentetate. وعلى أية حال، لم تتحقق المعالجة التامة بسبب التوزيع المتفاوت للجادولينيوم Gd في نسيج الورم. وقد أظهرت هذه الدراسة أن الفائدة المحتملة من Gd-NCT، تكون عن طريق استخدام جسيمات نانوية محملة بالجادولينيوم Gd [85]. وقد قام واتاناب Watanabe وآخرون باختبار مستحلبات دهن الجادولينيوم (Gd-LE) النانوية المشيدة من كولين فوسفاتيديل مهدرج، وجادولينيوم حمض ثنائي إيثيلين رباعي أمين خماسي الخل (Gd-DTPA) diethylenetetraaminepentaacetic، والتي تم معالجتها بالبولي أوكسي إيثيلين polyoxyethylene؛ لتوليد جزء (شطر) محب للماء. وتم حقن مستحلب دهني الجادولينيوم النانوي Gd-LE؛ وجسيمات مستحلب دهني EL (بحجم يتراوح من ٧٠-٩٠ نانومتر) في الوريد والغشاء البريتوني في جرذان الهامستر، الحاملة لسرطان الجلد (١,٥ ملجم لكل مل جادولينيوم Gd). وكان الحقن في الوريد مفيداً أكثر من الحقن داخل البريتون (الصفاق)، فيما يتعلق بالتوافر الحيوي، والاستبقاء في الورم والتراكم. وعندما تم الحقن في الغشاء البريتوني، انخفض التوافر الحيوي إلى ٥٧٪، مقارنة بالحقن في الوريد. وكان التراكم في الورم ٤٩,٧ ميكروجرام جادولينيوم لكل جرام من الورم في ٢٤ ساعة، مقارنة بـ ٢١ ميكروجرام جادولينيوم لكل جرام من الورم في ١٢ ساعة في المجموعات المعالجة عن طريق الغشاء البريتوني. ومع ذلك، فقد أدى التعاطي

الوريدي إلى زيادة تراكم الجادولينيوم في الكبد، والطحال، والرئة، والكلية مقارنة بالمجموعات المحقونة في الغشاء البريتوني. وقد أدى الحقن المتكرر بصيغة غنية بضعفين إلى تراكم ١٠٠ ميكروجرام جادولينيوم لكل جرام نسيج [86]. وكانت زيادة الفعالية بسبب الدوران المطول من الجزيئات، وانخفاض التفاعل بالجهاز الشبكي البطاني RES، وانخفاض إفراز مركب الجادولينيوم، وزيادة الاستبقاء في نسيج الورم. لقد حُضرت الجسيمات النانوية البوليمرية من خلال تشكيل معقد الفلز-البوليمر بين سيس-البلاتين (CDDP) و بوليمرات مشتركة وحدة البناء، مثل بولي (إثيلين جلايكول)- بولي (حمض الجلوتاميك)، حيث تم اختبار كفاءتها في توصيل سيس-البلاتين للأورام. وكان حجم الجسيمات النانوية (CDDP/m) ٢٨ نانومتر، وأظهرت إطلاقاً مستداماً خارج الجسم. وتم حقن الفئران الحاملة لسرطان رئة لويس في الوريد بـ CDDP الحر، أو الـ CDDP/m ٤ ملجرام لكل كلجم. وكان للـ CDDP/m زمن دوران أطول في الدم، وتراكم في الأورام بمعدل ٢٠ ضعفاً، مقارنة بـ CDDP الحر، بينما تم تخفيض تراكمه في الأنسجة الطبيعية. وتم ملاحظة انحسار الورم تماماً فقط في الفئران التي عولجت بـ CDDP/m، ولم يحدث أي تغيير في وزن الجسم خلال فترة العلاج. وقد سببت المعالجة بـ CDDP الحر وبالجرعة نفسها، فقدان ٢٠٪ من وزن الجسم، واحتفظت ببقاء الورم [87]. وتظهر هذه البيانات بوضوح مزايا تغليف الأدوية فيما يتعلق بزيادة التوافر الحيوي، وزيادة التراكم المستهدف، وخفض التراكم في الأعضاء الطبيعية.

وقد تراكمت كرات PIBCA النانوية المحتوية على ميتوكسانترون، والمغلوفة بالبولي أمين [88] في أورام الفئران الحاملة لسرطان الجلد، عندما تم حقنها في الوريد. وتبين هذه الدراسة أن التغليف بالميتوكسانترون لم يغير التوزيع الحيوي للعقار، مقارنة بالميتوكسانترون الحر. وكان تركيز دوكسوروبيسين doxorubicin البلازما في الجرذان

المحقونة وريدياً بجسيمات PIBCA النانوية، المغلفة بالبولي سوربات- ٨٠، والمحملة بالدوكسوروبيسين، هو ٠.١ ميكروجرام لكل جم، مقارنة بـ ٦ ميكروجرام لكل جم في الدماغ، خلال فترة تتراوح من ٢-٤ ساعة بعد الحقن في الوريد. وكانت الجسيمات النانوية قادرة على اجتياز حاجز الدم في الدماغ، وهو أمر ممكن من خلال امتزاز البروتين الدهني E، ونقل وسيط مستقبل البروتين الدهني منخفض الكثافة [89, 90]. وقد تراكمت جسيمات هكساديكيل سيانو أكريلات المغلفة بال PEG بنسبة تصل إلى ثلاثة أضعاف، مقارنة بالجسيمات غير المغلفة في دماغ الجرذان [91].

وتم تغليف عقار إيرينوتيكان irinotecan في جسيمات بولي لاكتيك نانوية من بوليمرات مشتركة الوحدات PEG-PPG-PEG. وكان محتوى العقار في الجسيمات النانوية ٤.٥٪، وتوزيع الحجم ٨٠-٢١٠ نانومتر، وتم حقن هذه الجسيمات في الفئران والجرذان الحاملة للسرcoma (ورم خبيث ينشأ في النسيج الرابط) sarcoma. وكان الإرينوتيكان مضادا للورم فقط في شكله المغلف، عندما يحقن وريدياً أو تحت الجلد. وقد زاد تركيز البلازما من الإرينوتيكان في حقن الجسيمات النانوية مقارنة بالإرينوتيكان الحر (CPT 11) [92]. إن حجم الجسيمات الصغير يزيد من امتصاص الورم، وبالتالي يُحسن العلاج الكيماوي.

إن التاكسول toxal أحد أكثر العقاقير المضادة للأورام فعالية، ومع ذلك فتأثيره العلاجي محدود؛ بسبب ذوبانيته الضعيفة. ولقد تم اختبار الاستهداف السلبي باختيار الحجم داخل الجسم على فئران حاملة لسرطان الجلد B16F10، والتي تم حقنها وريدياً بكرات PVP نانوية (٦٠ نانومتر)، تحتوي على باكليتاكسيل (تاكسول). وأدى الحقن المتكرر إلى زيادة البقاء على قيد الحياة، واختزال كتلة الورم مقارنة للمعالجة بالباكليتاكسيل الحر [72]. وهذا الأسلوب مفيد برغم أن الباكليتاكسيل يُظهر ذوبانية مائية ضعيفة، وبناء على ذلك يستلزم تركيز علاجي لمدة طويلة؛ لتحقيق

الفعالية السريرية. إن جسيمات الـ PLGA النانوية المحملة بالباكليتاكسيل بأغلفة البوليمر، تكون قابلة للتحلل الحيوي. وعندما حقنت وريدياً تم إطلاق العقار في نمط ثنائي مرحلي، بإطلاق سريع ابتدائي، يتبعه إطلاق مستمر أبداً. وقد يكون الإطلاق السريع بسبب انتشار ذوبان العقار والحصر الضعيف، بينما يمكن أن يُعزى الإطلاق الأبطأ للانتشار خلال قلب الـ PLGA. كما تم تحسين السمية خارج الجسم بعشرة أضعاف في أسلوب جسيم الـ PLGA، مقارنة بالباكليتاكسيل الحر في بطانة خلية سرطان رئة خلية صغيرة بشرية. ونظراً لأن الباكلتاكسيل كان أكثر نشاطاً مع الخلايا في دورة الخلية G2/M، فإن أزمدة حضانة أطول تكون أكثر فعالية. وقد أدى استخدام بوليمرات مشتركة مختلفة في تحضير الجسيمات النانوية إلى إطالة فترة الإطلاق، وزيادة كفاءة المعالجة [93].

لقد تم تغليف الباكلتاكسيل في جسيمات جيلاتينية نانوية ذات قطر في مدى يتراوح من ٦٠٠-١٠٠٠ نانومتر. وتم اختيار الحجم الكبير؛ لضمان مكوث الجسيمات في المثانة البولية، حيث تم زرعها، وأطلقت العقار المغلف بسرعة. وكانت الـ IC₅₀ مماثلة لتلك من الباكلتاكسيل الحر [94]. ومنع هذا الأسلوب تعرض العقار النظامي، وبذلك تم منع الآثار الجانبية.

الصيغة المتوفرة تجارياً للتعاطي الوريدي، هي صيغة الباكلتاكسيل في كريموفور Cremophor LE والكحول (٥٠:٥٠). ولا يتوافق المذيب مع أنابيب التشريب (إدخال سائل في الوريد) infusion، المصنوعة من بولي كلوريد الفينيل PVC، ويسبب آثاراً جانبية خطيرة، كالتسمم الكلوي والتسمم القلبي، ويمكن أن تدار فقط بعد المداواة الأولية بمضاد الهستامين والستيرويد [95-97]. وكان التعاطي لفترة طويلة، يتطلب زمن تشريب يصل إلى ثلاث ساعات.

في أسلوب جديد تم استبدال الكريموفور بجسيمات PLGA نانوية قابلة للتحلل الحيوي، تحتوي على سكسينات α -d ١٠٠٠-تكوفيريل بولي إيثيلين جليكول (TPGS) d- α -tocopheryl polyethyleneglycol 1000 succinate كمستحلب/ومثبت لإذابة الباكليتاكسيل للتناول عن طريق الفم. وكانت كفاءة تغليف العقار، وإمكانية التحكم في حركة الإطلاق ١٠٠٪. ويتنوع حجم الجسيم من ٣٠٠ إلى ١٠٠٠ نانومتر [98].

لقد تم اختبار التوكوسول Tocosol، وهو مستحلب باكليتاكسيل مستند على فيتامين E، في المرحلة الثانية II من التجارب السريرية. وتلقى مرضى تاكسين البسطاء Texane-naïve المصابون بسرطان المبيض، وسرطان المثانة، وسرطان القولون والمستقيم، أو سرطان الرئة كبير الخلية تشريباً (ضحاً) لمدة ١٥ دقيقة من التوكوسول مرة في الأسبوع، وكان تحمل المعالجة جيداً، ولم تتطلب فترة أطول للمعالجة الأولية بالستيرويد. وتم رصد الاستجابة بنسبة تتراوح من ٤-٢٦٪ من المرضى؛ وكان المرض مستقراً لدى نصف المرضى [99].

في المرحلة الأولى I من التجارب السريرية باستخدام ABI-007، وهو عبارة عن صيغة جسيمات الزلال (الألبومين) النانوية، كان يدار الباكليتاكسيل المغلف بشكل وريدي إلى المرضى. وتم زيادة معدل التشريب بستة أضعاف، ولم يكن هناك حاجة للمعالجة الأولية، وتحققت أعلى جرعة متحملة قصوى (MTD) خلال التغليف، مقارنة بالعقار الحر [100]. وغابت تفاعلات فرط الحساسية، وكان هناك انخفاض في حالات الإصابة بالإخماد النخاعي myelosuppression، ولوحظت سمية دموية معتدلة مقارنة بالعقار الحر. واعتباراً من عام ٢٠٠٣م، دخل الـ ABI-007 في المرحلة الثالثة III من التجارب السريرية لسرطان الثدي النقيلي.

كما تم اختبار ABI-007 للتوصيل الرئوي في الجرذان من خلال التعاطي داخل القصبة الهوائية intratracheal. وكانت الجرعة المدارة ٥ ملجم باكليتاكسيل لكل كجم

من وزن الجسم، وتم تحديد التوزيع الحيوي باستخدام باكليتاكسيل تريتيوم-موسوم/ABI-007. وتحقق تركيز العقار الأقصى في غضون ٥ دقائق بعد تناوله، وكان متوسط امتصاص عمر النصف ٠,٠١ ساعة، وزمن الإزالة ٤,٧ ساعة. وبعد عشر دقائق، تم اكتشاف ٢٨٪ من العقار في الرئتين، واكتشف أقل من ١٪ في الأنسجة الأخرى [101].

واختُبر تناول ABI-007 عن طريق الفم في الجرذان، ونتج عنه تراكم بنسبة ٤٥٪، وزادت نسبة هذا التراكم إلى ١٠٠٪ في وجود السيكلوسبورين A (cyclosporin). وتم الوصول إلى التركيز الأقصى من باكليتاكسيل/سيكلوسبورين ABI007/A، بشكل أسرع، حيث كان ست مرات (في غضون ٣٠ دقيقة)، مقارنة بالباكليتاكسيل الحر. ومن المثير للانتباه، أنه لم يتحقق التشبع خلال التناول عن طريق الفم. والامتصاص عن طريق الفم السريع، والتوافر الحيوي المتزايد (١٠٠٪ مقابل ٣٨٪)، يقترحان آلية جديدة لامتصاص العقار عن طريق الفم [102].

إن تركيز العقار الفعال عقاقيرياً في الورم، هو شرط للمعالجة الناجحة، وما زال من الصعب تحقيقه في المعالجات المنهجية (النظامية). وأُجري توصيل التاموكسيفين لمستقبلات هرمون الإستروجين الموجبة لخلايا سرطان الثدي بواسطة جسيمات بولي-ε-كابرولاكتون النانوية. وخارج الجسم تم العثور على التوزيع الخلوي للتاموكسيفين، المحتوي على جسيمات بولي-ε-كابرولاكتون النانوية في المنطقة المحيطة بالنواة في خلايا MCV-7، بعد مرور ساعة واحدة، وقد تشبع تركيز الخلايا من التاموكسيفين [103].

تم تغليف مضاد الإستروجين RU 58668 في كبسولات نانوية قابلة للتحلل الحيوي (١١٠ نانومتر)، وكرات نانوية (٢٥٠ نانومتر)، تتكون من جسيمات حمض البولي لاكتيك النانوية المغلفة ب-PEG. وتم حقن هذه الجسيمات وريدياً في الفئران الحاملة لطعم هجين الـ MCF-7. إن التغليف بالـ PEG أطل فاعلية مضاد الإستروجين

RU 58668، مقارنة بالجسيمات النانوية غير المغلفة. وكانت فعالية مضاد الورم للعقار المغلف بكبسولات PEG نانوية أقوى من صيغة الكرة النانوية. وتراكمت الجسيمات في الكبد والطحال، والأورام [104].

١١,٦,٢ الاستهداف الفعال Active Targeting

١١,٦,٢,١ الاستهداف الموجه مغناطيسياً إلى نسيج الورم [FettU]

Magnetically Directed Targeting to Tumor Tissue [FettU]

لقد كان أول إعلان عن الجسيمات النانوية المغناطيسية في عام ١٩٥٧م من قبل جيلكريست Gilchrist وآخرين. لقد درس هؤلاء العلماء التأثير الحراري المفرط من التعرض لمجال مغناطيسي (١.٢ ميغاهرتز) على أنسجة مغمورة في سوائل حديدية من $(\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3)$ ، بحجم يتراوح من ٢٠-١٠٠ نانومتر [105]. ويمكن أن تتكون الجسيمات النانوية المغناطيسية من أكسيد الحديد، والمغنيتيت (أكسيد الحديد الأسود)، أو النيكل والكوبالت، أو خليط من أكاسيد البورون والنيوديميوم والحديد. وكل هذه الجسيمات تكون مغناطيسية أو فائقة البارامغناطيسية، ويتراوح حجمها بين ١٠ و ٢٠٠ نانومتر. ويستخدم بشكل تفضيلي المغنيتيت (Fe_3O_4)، والماجيميت (أكسيد الحديد المتبلور) ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)؛ لأنها متوافقة حيوياً وغير سامة للبشر. وعلى الرغم من المغناطيسية المرتفعة جداً للنيكل والكوبالت، إلا أنهما غير مناسبين للتعاطي إلى البشر بسبب سميتهما [106].

إن أكسيد الحديد غير قابل للتحلل بسهولة، ولذلك يكون مفيداً للتطبيقات داخل الجسم، كما أن الجسيمات الحديدية النانوية آمنة بيولوجياً. ويتم توظيفها (أيضاً) إلى عنصر الحديد والأكسجين بإنزيمات الحلمأة، وينضم الحديد إلى مخازن الجسم الطبيعية، ويندمج بعد ذلك في الهيموجلوبين. ويتم التحكم في توازن الحديد عن طريق الامتصاص، والإفراز، والتخزين. ولم تلاحظ السمية الحادة، وتم إفراز

الحديد المُدار في الجرذان على مدى ٤ أسابيع، كما لم تلاحظ السمية في التجارب الإكلينيكية على البشر [107]. وظلت وظيفة الكلى، والبارامترات الكبدية، وإلكتروليتات المصل، والدهيدروجينيز (إنزيم نزع الهيدروجين) لاكتات؛ بدون تغيير عن البارامترات الأساسية بعد المعالجة بالسوائل الحديدية [107]. واستمر ارتفاع مستويات الحديد في مصل الدم، حتى الحد الأقصى لمدة ٤٨ ساعة، ولم يسبب أي أعراض. وتم حقن جسيمات الحديد (٢٥٠ ملجم لكل كلجم) وريدياً في الجرذان بدون أي آثار جانبية [108]. وبلغت الجرعة في المرضى ٢,٦ ملجم من جسيمات الحديد، دون أي آثار جانبية [109].

إن العديد من الدراسات مستمرة لاستهداف الأورام داخل الجسم الحي للتطبيقات العلاجية، مثل توصيل الدواء، والتدمير الحراري المفرط للورم. وتسعى دراسات أخرى لاستخدام الجسيمات النانوية في التطبيقات التشخيصية، مثل استخدامها كعوامل تباين في الرنين المغناطيسي NMR، والتصوير بالرنين المغناطيسي MRI. وبناءً على تطبيق المجال المغناطيسي الخارجي (EMF)، يمكن توجيه الجسيمات إلى نسيج الورم، وينبغي أن تكون مثبتة عند إزالة المجال المغناطيسي الخارجي. إن تغليف سطح الجسيمات النانوية المغناطيسية، يزيد زمن دورانها، ويُسهّل عملية ترابط الليجاندات أو الجزيئات الأخرى على السطح للاستهداف والابتلاع الخلوي لوسيط المستقبل.

تعتمد فعالية العلاج المغناطيسي على قوة المجال المطبق، بالإضافة إلى الخواص المغناطيسية والحجمية للجسيمات، كما يجب أن تستوفي الجسيمات النانوية المغناطيسية المتطلبات التالية: مغنطة عالية يمكن التحكم فيها بمجال مغناطيسي خارجي، وتتجاوز معدلات تدفق الدم الخطية الـ ١٠ سم لكل ثانية في الشرايين، و ٠,٠٥ سم لكل ثانية في الشعيرات الدموية، وأن تكون متوافقة حيويًا، إضافة إلى زمن دوران طويل،

وحجم أقل من ٢٠٠ نانومتر، ويجب عدم تكتلها. إن المجال المغناطيسي بـ ٠,٨ تسلا كافٍ لتجاوز معدلات تدفق الدم الخطية في ناقلات، تحتوي على ٢٠٪ مغنيتيت (أكسيد الحديد المغناطيسي) [110]. وبالنسبة لمعظم الناقلات، يجب أن تكون كثافات الفيض المغناطيسي ٠,٢ تسلا، مع انحدارات مجال ٨ تسلا لكل متر من الشرايين الفخذية. وقد تم ملاحظة اختراق عمق النسيج لمدى يتراوح من ٨-١٢ سم [111]. كلما زاد عمق النسيج، انخفضت فعالية الاستهداف المغناطيسي. والاستهداف المغناطيسي والتوصيل غير قابلين للتطبيق بسهولة على الأورام الواقعة بشكل عميق في الجسم.

لقد تم اختبار الاستهداف الفعال بالعقاقير المضادة للسرطان في العديد من الدراسات داخل الجسم على الحيوانات والبشر. ولأدرياميسين adriamycin تطبيق محدود على البشر، بسبب ارتفاع سميته القلبية. والأسلوب لتفادي السمية المرتفعة في الأعضاء الحيوية داخل الجسم، يتمثل في توجيه عقاقير حاملة لجسيمات مغناطيسية إلى الأورام.

وقام لويب Luebbe وآخرون بتصنيع سوائل حديدية مغلقة بجلوكوز لامائي، وترتبط عكسياً إلى ٤-إبيروبيسين 4-epirubicin. وتم حقن هذه الجسيمات - بحجم ١٠٠ نانومتر- وريدياً في الجرذان والفئران الحاملة للورم. وعند التعرض لمجال مغناطيسي بقوة تتراوح من ٠,٢ - ٠,٥ تسلا، تراكم معقد سائل حديد الإبيروبيسين في منطقة الورم. وتم اكتشاف الغالبية من السوائل الحديدية في الكبد والطحال، ووصلت إلى مستويات معتدلة بعد ١٨ يوماً، بينما حدث ترسب حديدي قليل فقط في الرئة والكلى والقلب [112]. ويحدث تخفيض للورم فقط، إذا تم تطبيق حقل مغناطيسي خارجي بعد الحقن بسائل معقد ٤-إبيروبيسين الحديدي. وعلى النقيض من ذلك، لم تكن هناك استجابة من الورم عقب المعالجة بالإبيروبيسين الحر، وقد أدت الجرعات العالية فقط

من الإيرويسين إلى استجابة الورم، ولكن تلك الجرعات كانت سامة جداً، بل قاتلة، وكان معقد ٤-إيرويسين السائل الحديدي بمفرده في التراكيز الأعلى ساماً، مثل الإيرويسين بمفرده [112].

تم نشر المرحلة الأولى I من التجارب السريرية في عام ١٩٩٦م من قبل لويب وآخرين [107]، حيث ربط ٤-إيرويسين عكسياً إلى سوائل حديدية مغناطيسية بجسيم حجمه ١٠٠ نانومتر، وتم حقنها وريدياً في ١٤ مريضاً مصابين بسرطان الخلايا الحشرية للصدر أو الرأس والرقبة. ويوضح الجدول رقم (١١،١) خصائص السوائل الحديدية المستخدمة في هذه الدراسة. وتراوحت الجرعات من ٦ ملجم مل^{-٢} في حجوم تشريب ٢٠-٧٠ مل، وتم نقل الجرعات إلى ٥-١٠٠ ملجم م^{-٢} من السائل المغناطيسي. وخلال فترة التشريب، تم تطبيق المجال المغناطيسي (٠،٥-٠،٨ تسلا) لمدة تراوحت من ٦٠-١٢٠ دقيقة في منطقة الورم. وتراكم معقد السوائل الحديدية ٤-إيرويسين في منطقة الورم في ستة مرضى، وكان التحمل جيداً، وانخفض تأثير ٤-إيرويسين النظامي خلال ٦٠ دقيقة بعد الحقن، ولوحظ تعافي المرضى من السمية الدموية، مثل نقص الكريات البيضاء leukopenia، أو نقص الصفائح الدموية thrombocytopenia، خلال ٢١ يوماً، وكانت أقل من حالة المعالجة ب ٤-إيرويسين بمفرده. وظلت مستويات حديد المصل العابرة مرتفعة لمدة تتراوح من ٢٤-٤٨ ساعة، ولم تلاحظ أية تغييرات في الوظيفة الكلوية أو البارامترات الكبدية، كما كان امتصاص الحديد في الأورام مرئياً بتغير لون منطقة الورم. ولم يمكن تحديد كمية الجسيمات الواصلة إلى الكبد أو الطحال [107]. وبوضوح أظهر المرضى المصابون بأورام قريبة من الجلد استجابة أكبر في تراكم جسيمات الحديد في موقع الورم. وتكون هذه نتيجة صغر عمق النسيج الذي سيتم اختراقه من قبل المجال المغناطيسي.

الجدول رقم (١١, ١). خصائص السوائل المغناطيسية (من المرجع [112]).

حجم الجسيم	١٠٠ نانومتر
مغنيثت	١,٥٪ من الوزن الكلي
محتوى الحديد (وزن/وزن)	٦٠٪
الرقم الهيدروجيني pH	٧,٤
اللون	أسود
الرائحة	طبيعية
محتوى الحديد	٦ ملجم/مل
محتوى الكربوهيدرات	٥ ملجم/مل
عدد الجسيمات	10^8 /مل
الوزن/ الحجم	١٠ ملجم/مل

امتزاز إيبرويسين خلال ٣٠ دقيقة

يعتمد توزيع الجسيمات المغناطيسية على مسار التعاطي، وقد تمت مقارنة مسارات مختلفة، عندما حُقنت سوائل حديدية مرتبطة بالميثوكسانترون (١٠٠ نانومتر) وريدياً وشريانياً في أرناب محملة بخلايا سرطانية حشرافية، مع تعريضها لمجال مغناطيسي خارجي (١,٧ تسلا)، كما تم مقارنة كفاءات المعالجة فيما يتعلق بالاستهداف المغناطيسي للأورام. وفي هذا النموذج، تحقق انحسار الورم بعد ١٢ يوماً فقط مع الحقن في الشريان. أما الحقن في الوريد، فكان يثبط الخلايا؛ مما يشير إلى أن التعاطي في الشرايين كان أكثر نجاحاً من التعاطي في الوريد. وكان تعاطي الميثوكسانترون الحر (داخل الشرايين) أقل فعالية؛ مما سبب داء الثعلبية، مع مشاهدة انحسار الورم بعد ٢٤ يوماً. وقد أدى التعاطي الشرياني إلى زيادة تركيز العقار في موقع الورم، وأظهر الفحص النسيجي لنسيج الورم أن السوائل الحديدية تركزت في الفضاء داخل التجويف، وترسبت في البطانة، والنسيج الخلائي للورم والأنسجة المحيطة به. ولم تلاحظ أية تغييرات مرضية (باثولوجية) في الكبد، والكلية، والطحال، والرئة،

أو الدماغ. وتشير هذه الدراسة إلى أن الحقن الوريدي، قد يكون أقل فعالية كطريق لاستهداف الأنسجة خلال الاستهداف المغناطيسي؛ لأن النظام الشبكي البطاني (RES) يُزيل الجسيمات النانوية المحقونة من النظام أثناء المرور الكبدي. وتقوم الخلايا البلعمية الكبيرة للنظام الشبكي البطاني RES بنقل الجسيمات المبلعمة إلى الكبد، والطحال، ونخاع العظام، والعقد الليمفاوية. وتبدو هذه الأعضاء هدفاً أكثر ملاءمة لهذا الأسلوب. وعلى أية حال، فقد كان الحقن الشرياني ناجحاً في نقل الجسيمات النانوية إلى الأورام الواقعة في الساق الخلفية للأرانب، من خلال تفادي المرور الكبدي [113].

وكان تطبيق القوة المغناطيسية ضرورياً في تركيز السوائل الحديدية في موقع الورم. وأدى خفض ارتباط الميتوكسانترون بالسوائل الحديدية إلى تركيز دوران الميتوكسانترون بحوالي ٥٠-٨٠٪، مقارنة إلى الميتوكسانترون الحر عندما تم إعطاؤه [114].

عندما تم حقن جسيمات أكسيد الحديد المغلفة بالدكستران طويلة الدوران وريدياً في نموذج ورم سرcoma دبقي القوارض، تراكمت الجسيمات في نسيج الورم، وتم اكتشافه عن طريق التصوير بالرنين المغناطيسي. وكان توزيع الجسيمات في الورم ١٩٪ خلائياً، و٤٩٪ خلويًا في خلايا الورم الدبقي، و٢١٪ أدرجت في الخلايا البلعمية الكبيرة المرتبطة بالورم، كما عبرت الجسيمات النانوية حاجز الدم في الدماغ [115].

لقد أُجري توصيل الدوكسوروبيسين بالجسيمات النانوية المغناطيسية في الحنازير [116, 117]، والأرانب [113]، والجردان [118, 119]. وفي كل الحالات، أمكن تخفيض تركيز الدوكسوروبيسين الفعال بعامل يساوي ١٠، وتم استخدام مغناطيسات مزروعة في منطقة الورم؛ لتوجيه المغنيتيت المحتوي على جسيمات الدوكسوروبيسين/

الليبوزوم إلى نسيج الورم. وقد أدى ذلك إلى زيادة فعالية مضاد الورم، مقارنة بالدوكسوروبيسين المحقون وريدياً، وتم إزالة الآثار الجانبية [120, 121].

٢,٢,٦,١١ استهداف فعال موجه بالليجان

Ligand-Directed Active Targeting

إن توظيف الجسيمات النانوية بعوامل استهداف، مثل الليجانادات أو الأجسام المضادة، والتي تُربط إلى المستقبلات على أغشية خلايا الورم، وتعمل على تسهيل الامتصاص النوعي في الخلايا المستهدفة وزيادته، من خلال ابتلاع الوسيط المستقبل، وبالتالي يمكن أن تزيد من تخصصية (نوعية) العقار داخل الجسم الحي. وتم دراسة تراكم جسيمات الوسيط المستقبل النانوية خارج الجسم.

لقد صنعت جسيمات نانوية محتوية على هكسانديون الجادولينيوم من البولي إيثيلين جليكول PEG 400 (بحجم أقل من ١٢٥ نانومتر). وتم ربط ليجاندا الفولات folate إلى الجسيمات النانوية عن طريق ربط حمض الفوليك إلى ديستارويل فوسفاتيديل إيثانول الأمين distearoylphospha-tidylethanolamine، عبر فاصل البولي إيثيلين جليكول PEG. واستهدفت الجسيمات النانوية المغلفة بالفولات بشكل محدد مستقبل الفولات، الذي يُجسّد (أو يعكس) خلايا سرطان البشرية الأنفية البلعومية البشرية KB، وعملت خلايا الـ MCF-7 كمتحكم سلبي في مستقبل الفولات. وقد أدرجت الجسيمات النانوية المغلفة بالفولات في خلايا سرطان البشرية الأنفية البلعومية البشرية KB عن طريق ابتلاع الوسيط المستقبل، وكان تركيزها أعلى بمقدار ١٠ أضعاف، بالمقارنة مع الجسيمات غير المغلفة. وحدث موت الخلية خلال علاج أسر نيوترونات الجادولينيوم [122] في خلايا سرطان البشرية الأنفية البلعومية البشرية KB، ولم يحدث في خلايا الـ MCF-7 سالبة المستقبل. ولم يلاحظ موت الخلية إلا بعد أن تراكمت الجسيمات النانوية لفولات الجادولينيوم في خلايا سرطان البشرية الأنفية

البلعومية البشرية KB [122]. وتم الحصول على نتائج ماثلة، عندما حضنت خلايا سرطان الثدي موجبة مستقبل الفولات والخلايا البلعومية الكبيرة مع جسيمات الفولات النانوية فائقة البارامغناطيسية المنسقة. ولم تستطع الخلايا البلعومية الكبيرة أن تكسب جسيمات الفولات المنسقة [123]، وتظهر هذه النتائج تخصصية عالية لعملية الوسيط المستقبل.

تظهر مستقبلات فيتامين هـ بشكل مفرط في الخلايا السرطانية، مقارنة إلى الخلايا الطبيعية. وكانت خلايا البولولان (PA) pullulan acetate وفيتامين هـ، تتجمع ذاتياً لتشكيل جسيمات بقطر ٨٠-١٢٥ نانومتر، وكانت محملة بالدوكسوروبيسين (أدرياميسين) (doxorubicin (Adriamycin). وتم اختبار استخدام هذه الجسيمات النانوية، واستهداف الورم، والاستيعاب، وإطلاق العقار المتحكم فيه على خلايا HepG2. وانخفضت كفاءة التحميل مع ارتفاع محتوى فيتامين هـ؛ مما يشير إلى إمكانية التوصيل المتحكم فيه عملياً. وأظهرت جسيمات فيتامين هـ النانوية المنسقة تفاعلاً قوياً مع خلايا HepG2، بينما أظهرت جسيمات خلايا البولولان (PA) بمفردها تفاعلاً ضعيفاً؛ مما يشير إلى ابتلاع الوسيط المستقبل. وتم إطلاق الدوكسوروبيسين القابل للتشبع خلال ٦٠ دقيقة، واعتمد على سعة التحميل للجسيمات النانوية. ويمكن التحكم في إطلاق الدوكسوروبيسين من خلال محتوى فيتامين هـ للجسيمات خلايا البولولان PA النانوية [124].

١١,٦,٢,٣ توصيل عقاقير مستهدفة باستخدام التوجيه المغناطيسي

Targeted Drug Delivery Using Magnetic Guidance

تستطيع العقاقير أو الليجاندات الارتباط تساهمياً إلى الجسيمات النانوية المغناطيسية نفسها، أو إلى غلافها البوليمري، نتيجة المساحة السطحية الكبيرة للجسيمات النانوية. والتعرض إلى مجال كهربائي متناوب يكسب الجسيمات في النسيج

المستهدف. وعندما تتجاوز قوى المجال المغناطيسي معدل تدفق الدم الخطي (0.05 سم^{-1} في الشعيرات الدموية)، فإنه يتم الاحتفاظ بالجسيمات المغناطيسية في المنطقة الخلالية من خلال تأثير الاستبقاء والنفاذية المحسنة EPR. ويمكن استيعاب الجسيمات في الأورام عن طريق الابتلاع الخلوي للجناد المتحكم فيه أو الانتشار، ويمكن توصيل العقار بالتركيز المطلوب للعلاج. وحديثاً تم تشييد كرات تامة مغناطيسية مغلقة بالسيليكا [125] [126] ، بحجم متوسط ١٥٠ نانومتر. وقد تم تصميم ناقلات على شكل قلوب جسيمات مغناطيسية مغلقة ببوليمرات أو ببوليمر مسامي ، والتي تكون فيها الجسيمات النانوية المغناطيسية واقعة داخل المسام [127].

١١,٧ العلاج الجيني اللا فيروسي بالجسيمات النانوية

Nonviral Gene Therapy with Nanoparticles

إن ما يقرب من ٧٠٪ من التجارب السريرية الأوروبية، تستخدم العلاج الجيني الفيروسي. وكثيراً ما تمتلك خلايا الورم طفرات أو تعديلاً مفرطاً للجينات، التي تنظم موت الخلايا المبرمج apoptosis ومسارات انتشارها، وهذه التعديلات في الجينوم تسبب نمو خلايا الورم باطراد. إن تعديلاً مفرطاً لبروتينات معينة، مثل Bcl-2 في الخلايا السرطانية، يمنع موت الخلايا المبرمج، ويؤدي إلى المقاومة الكيميائية. والأهداف الأخرى للعلاج الجيني تتمثل في نقل الجين p53 (تخميد الورم)، c-my، والسيتوكينات (بروتينات تنشط الخلايا المناعية) cytokines، مثل IL-12؛ لتحسين فعالية مضاد الورم. إن إدخال أوليغونوكليوتيدات مضادة للإحساس في الخلايا السرطانية، يمكن أن يمنع تعديل فرط للبروتينات الخاصة، التي تمنع خلايا الورم من الموت المبرمج؛ مما يؤدي إلى مقاومة كيميائية.

يواجه العلاج الجيني الفيروسي المشاكل التي يمكن أن تحد من تعداء ومعدل استنساخ الجين/ الحمض النووي DNA. وينخفض معدل تعداء الحمض النووي DNA؛ لأن بيئة خلية الورم المشحونة سالباً، تعوق امتصاص الحمض النووي DNA المضاد للإحساس المشحون سالباً. والعقبات الأخرى هي تحلل الحمض النووي الفيروسي في الدورة الدموية، وبعد التعداء بإنزيمات تحلل النوى (نيوكليز) الخارجية/الداخلية endo-/exo-nucleases، الناجمة من التحلل الليزوزومي. ويستطيع العلاج الفيروسي بدء الاستجابة المناعية في المريض. إن تصنيع تركيبات الحمض النووي الفيروسي مكلف للغاية، ويتطلب اتخاذ إجراءات سلامة وتدابير وقائية عالية [128-130].

يمكن تجنب العديد من المشاكل التي تُصَادَفُ توصيل الجين الفيروسي بتغليف الحمض النووي في جسيمات نانوية، والتي تفتح عصراً جديداً في العلاج الجيني [131]. إن التوصيل الجيني اللافيروسي يحمي الحمض النووي من التحلل النووي الخارجي/والداخلي، ويتفادى الاستجابة المناعية المبدوءة فيروسياً. وبناء على ذلك، فتوصيل جسيمات نانوية من الحمض النووي، يزيد من معدل التعداء، كما أن له مزايا رئيسة بالنسبة لأسباب الأمان والتصنيع [128-130]. ولتحسين معدلات التعداء، يجب أن تلبى الجسيمات النانوية لتوصيل الحمض النووي إلى خلايا الورم المتطلبات التالية: حزم حمض نووي صغير الحجم (أقل من ٢٥ نانومتر)؛ لتسهيل توصيل الحمض النووي إلى النواة؛ والحماية من مصل أنزيمات تحلل النوى الداخلية/الخارجية، وتحقيق الاستقرار أثناء عملية الامتصاص، ويجب عليها كذلك تجاوز مسار الابتلاع الخلوي/ والتحلل الليزوزومي [132]. ويتم تحلل الجزيئات الكبيرة، التي تدخل المنطقة الخلوية خلال الابتلاع الخلوي بفعل الليزوزومات، ومن ثم تصبح مشبعة (مخمدة). وتم

توضيح الهروب من التحلل الليوزومي الداخلي للجسيمات PLGA النانوية، وأطلق الحمض النووي المغلف ببطء؛ مما أدى إلى تغيير جيني مستمر [133].

عندما تم تعداء الخلايا غير المنقسمة، وورم الخلايا العصبية neuroblastoma مكبوح النمو، وخلايا الورم الكبدي بمخاليط لبيوزومات الحمض النووي DNA، زاد التعداء بحوالي ٧٠٠٠ ضعف، مقارنة بالحمض النووي المجرد. وكان حد حجم الليوزومات للتعداء، هو ٢٥ نانومتر، والذي يساوي حجم المسام النووية. وقد أظهرت الجسيمات بحجم أكبر من ٢٥ نانومتر قدرة تعداء منخفضة. إن توصيل الجينات من خلال ناقلات فيروسية، مرتبطة إلى سطح الغلاف المغناطيسي؛ يكون قيد التطوير للعلاج بالجينات. وميزة هذا الأسلوب هي الاتصال الممتد للنقل الفيروسي مع خلية الهدف، وزيادة معدل التعداء، ومعدل التعديل للجين المولج (المُحم) [134, 135].

لقد تجلّى توصيل الجين المستهدفة لمنع تكوين الأوعية الدموية في نسيج الورم. وكانت جسيمات نانوية مستندة على دهون مُبلّمة كاتيونية (٤٠-٥٠ نانومتر)، مقترنة تساهمياً مع ليجاندات- $\alpha_v\beta_3$ الإنتجرين؛ هي التي تستهدف الأوعية الدموية الوعائية [136]. وخارج الجسم، قد وصلت هذه الجسيمات جين تشفير- بروتين التفلور الأخضر (GFP) بشكل محدد إلى خلايا سرطان الجلد البشري، مُظهراً مستقبل الإنتجرين. وتم إقران البلازميدات على سطح الجسم عن طريق التجاذب الإلكترونيستاتيكي. والأهم من ذلك، أن الجسيمات النانوية بدون ليجاندات-

$\alpha_v\beta_3$ الإنتجرين لم تدرج في الخلايا، ومن ثم لم يتم توصيل بروتين التفلور الأخضر (GFP). وتم اختبار هذا الأسلوب داخل الجسم على فئران حاملة طعم هجين لسرطان الجلد البشري، وتم حقن الفئران وريدياً بجسيمات نانوية محتوية على جين لوسيفيريز وليجاندا- $\alpha_v\beta_3$ (NP- $\alpha_v\beta_3$ -luciferase)؛ لتحديد ما إذا كان ال- $\alpha_v\beta_3$ يستطيع توصيل الجينات إلى الأوعية الدموية المرتبطة بالورم الوعائي أم لا. وتم

الكشف عن فعالية إنزيم اللوسيفيريز القسوى في منطقة الورم بعد ٢٤ ساعة، ولم يكتشف شيء في أوعية الرئة، والكبد، والدماغ، والكلى، أو العضلة الهيكلية. وتم استهداف الأوعية الدموية المرتبطة بالورم على وجه التحديد، كما تم منع توصيل الجين في وجود المثبط $\alpha_v\beta_3$ [136].

تم حقن الفئران الحاملة للورم الملانني (سرطان الجلد) تحت الجلد M21-L (سلبى - $\alpha_v\beta_3$) وريدياً بـ $\alpha_v\beta_3$ -NP-Raf(-)؛ لمنع إرسال إشارة بطانية، وتكوين الأوعية الدموية. وقد أدت المعالجة إلى موت الخلايا المبرمج للبطانية المصاحبة للورم؛ مما أدى إلى انحسار موت خلايا الورم المبرمج للورم الابتدائي والنقائل بعد ٦ أيام [136].

معظم تركيبات توصيل الحمض النووي DNA تربط الحمض النووي DNA إلى سطح الجسيمات. ويُحسّن التوصيل النظامي داخل الجسم من p53 بمعقد ترانسفيرين-Lip-p53 Transferrin-Lip-p53 معدل التعداء، مقارنة بتركيب غير مستهدف. وقد لوحظ انحسار الورم تماماً لطعم هجين سرطان بروتاتا بشري DU145 في الفئران التي تم معالجتها بالإشعاع [137].

توصيل الحمض النووي DNA خلال أساليب تقنية النانو له تطبيقات مستقبلية

مهمة في معالجة الأمراض من أي نوع؛ لأنها تسهل:

- زيادة معدلات الاستنساخ والتعداء.
- استنساخ مستدام من خلال الإطلاق البطيء.
- انخفاض الخطر الحيوي في الإنتاج والتطبيق.
- انخفاض الاستجابة المناعية لدى المريض.
- حماية الحمض النووي والنظام الحيوي.
- استهداف نوعي.

قد يتفوق التوصيل الجيني اللافيروسي على التوصيل الجيني الفيروسي في المستقبل.

١١,٨ الحرارة المفرطة Hyperthermia

إن خلايا الورم تكون أكثر حساسية إلى درجات الحرارة فوق 42°C من الخلايا الطبيعية [138, 139]، ويمكن تدميرها عن طريق زيادة درجة الحرارة الموضعية إلى $41-42^{\circ}\text{C}$ لمدة ٣٠ دقيقة [140-143]. وتولد الجسيمات المغناطيسية الحرارة تحت مجال مغناطيسي متناوب (AMF) من خلال فقدان التخلفية [143, 144]. يحدث إنتاج الحرارة أثناء الفقدان الحراري، الناتج عن إعادة توجيه مغناطيسية المادة المغناطيسية ذات الموصلية الكهربائية المنخفضة [144]. وترتبط إمكانية التسخين مباشرة بحجم الجسم المغناطيسي، الذي يمكن التحكم فيه من خلال طرائق التشييد المناسبة. وعلى سبيل المثال، تتطلب الجسيمات النانوية قدرة تيار متردد AC أقل من الجسيمات الدقيقة، كما تتطلب زيادة تشتت الجسيمات النانوية قدرة تيار متردد أقل [145, 146]. وقد حُدِّت معدلات قدرة الامتصاص النوعي Specific SARs absorption power rates في معلقات جسيمات المغنيتيت النانوية لحجم وغلاف مختلف. وكانت معدلات قدرة الامتصاص النوعي SARs لفريت الدكستران (أو حديدات عديد السكر) dextran ferrites من $180-210$ وات جم⁻¹ حديد (120 نانومتر)، ولفريت الدكستران الذي تم تعريضه لموجات صوتية sonicated، تراوحت من 12 إلى 240 وات جم⁻¹ حديد، ولمستحلب الحديد غير المغلف من صفر إلى 45 وات جم⁻¹ حديد ($6-10$ نانومتر). فقد أدى التعرض لموجات صوتية فائقة (صوتنة فائقة) Ultrasonification، إلى تشتيت الجسيمات المتكتلة، التي يمكنها تدمير جزء من غلاف الدكستران. وتمتلك جسيمات مغنيتيت كربوكسي ميثيل الدكستران (130 نانومتر)

معدل قدرة امتصاص نوعي SAR ٩٠ وات جم^{-١} Fe. وتسمح بيانات معدل قدرة الامتصاص النوعي SAR بتقدير كمية الجسيمات اللازمة لتسخين الأنسجة البشرية [147, 148].

لاختبار كفاءة المعالجة بالحرارة المفرطة، تم حقن سوائل مغناطيسية بحجم جسيم ٣ نانومتر مغلف بالديكستران في أورام ثديية C3H للفئران. وبعد ٣٠ دقيقة تم تعريض الأجسام الكاملة للفئران لمجال مغناطيسي متناوب AMF من ٦-١٢ كيلو أمبير م^{-١}، عند ٥٢٠ كيلوهرتز لمدة ٣٠ دقيقة. وارتفعت درجة الحرارة داخل الورم إلى ٤٦°م، وزاد تراكم السائل الحديدي في نسيج الورم من ١٥٪ إلى ٤٥٪. وحقن السائل الحديدي بمفرده لم يغير البنية النسيجية للورم. وقد لوحظ نخر الورم في الفئران مع السائل الحديدي، والتعرض إلى مجال مغناطيسي متناوب AMF. وعلى أية حال، كان نمو الورم بعد العلاج غير متجانس، مع استجابة ٤٤٪؛ مما يدل على أن تجانس الورم يتزامن مع توزيع السائل الحديدي [148].

وبعد الحقن الوريدي بـ ١٠٠ ملجم مغنتيت دكستران (٤٠٠ ملجم كلجم^{-١}) في الجرذان، لوحظ تراكم الجسيمات النانوية في أورام الثدي. وأدى التعرض لمجال مغناطيسي متناوب AMF (لمدة ١٢ دقيقة، ٤٥٠ كيلوهرتز) إلى تقلص نسيج الورم ونخره، وتختثر في الأوعية الدموية [149]. وفي الفئران زاد تركيز الحديد في الكبد والطحال بعد الحقن الوريدي؛ بسبب امتصاص الجهاز الشبكي البطاني RES. وبدايةً كانت محتويات الحديد في الأورام ١٥٪، وانخفضت إلى ٢٪ بعد مرور ٥٢ ساعة. وقد أدى تطبيق المجال المغناطيسي المتناوب AMF إلى زيادة بمقدار ضعفين ونصف (٢.٥ ضعف) من الحديد، خاصةً في نسيج الورم خلال فترة زمنية قدرها ٣٠ دقيقة. وباستثناء المنطقة المحيطة بالورم، لم تحدث تدفئة شاملة؛ مما يدل على أن محتوى الحديد في الأورام كان كافياً لإحداث ارتفاع الحرارة. ومن أجل تدمير الأورام بفعالية خلال

ارتفاع الحرارة، تم اقتراح الكمية المطلوبة من الحديد داخل نسيج الورم؛ لتكون ٥-١٠ ملجم سم^{-٣} [150].

ويتم إقران لبيوسومات مغناطيسية (ML) مع الجسم المضاد الذي يُميز خلايا الورم الكلوي، حتى يزداد تراكم محتوى الحديد أكثر في الأورام. وتم حقن فئران حاملة لأورام كلبي مزروعة بـ G250F-ML.

وكان إدراج الحديد في أورام الكلبي أعلى بمقدار ٢٧ ضعفا عند الحقن بالـ G250F-ML، مقارنة إلى جسيمات الليوسومات المغناطيسية ML بمفردها. والتعرض لمجال مغناطيسي متناوب (AMF) (٥ كيلوات، ١١٨ و كيلوهرتز، ٣٠,٦ كيلوأمبير م^{-١})، كبح نمو الورم في غضون أسبوعين [151]. وقد لوحظ النخر في الأورام فقط، ولم يلاحظ في الأكباد بعد التعرض لمجال مغناطيسي متناوب AMF، على الرغم من تراكم الليوسومات المغناطيسية ML في الكبد. ولقد تحقق التدمير الكامل لنسيج الورم بعد التعرض لمجال مغناطيسي متناوب AMF ثلاث مرات؛ مما يدل على أن التعرض المتكرر يكون فعالاً. وكانت نسبة توزيع الحديد ٥٠٪ في الورم، و ٣٥٪ في الكبد، و ٣٣٪ في الدم.

وأدى حقن الجسيمات النانوية المغناطيسية داخل الورم في فئران حاملة لسرطان الثدي البشري، إلى إطلاق جزئي للجسيمات من الأورام، وتراكت في الكبد والطحال والرئة. وقد تتضرر هذه الأعضاء عند تعرض الجسم لمجال مغناطيسي متناوب AMF [145].

وقد اقترح أسلوب علاج بالحرارة المفرطة مدمج لطعم هجين U251-SP في الفئران العارية؛ لزيادة كفاءة المعالجة. وتم قيادة العلاج الجيني TNF- α بدمج معزز للحرارة مستحث بارتفاع الحرارة، يستخدم لبيوسومات كاتيونية مغناطيسية. وعندما حقنت الفئران داخل الورم بالليوسومات الكاتيونية المغناطيسية، وعُرضت لمجال

مغناطيسي متناوب AMF (١١٨ كيلوهرتز، ٣٠,٦ كيلوأمبير م^{-١})، تم حث موت خلية الورم في غضون ثلاث دقائق. وقد زاد التعديل الجيني TNF- α بثلاثة أضعاف أثناء حث حرارة المجال المغناطيسي المتناوب AMF، حتى في المناطق الطرفية (الخارجية) التي لم تتأثر بارتفاع الحرارة [152].

وقد أظهر الاستهداف النوعي للخلايا السرطانية، وإدراج الجسيمات النانوية المغناطيسية المترافقة في هرمون إطلاق هرمون انبثاق البويضة (LHRH) - luteinizing hormone-releasing hormone خارج الجسم؛ تراكم الجسيمات النانوية المغناطيسية خلال ابتلاع خلوي الوسيط المستقبل. وتم تحضين خلايا سرطان الثدي البشري MCF-7، الممثلة لمستقبل هرمون إطلاق هرمون انبثاق البويضة LHRH بجسيمات نانوية مغناطيسية لهرمون إطلاق هرمون انبثاق البويضة LHRH، مغلفة بسيليكاً وبمجم جسيم نهائي من ٢٠-٥٠ نانومتر. وهذه الجسيمات المتراكمة على السطح، وداخل الخلايا الممثلة لمستقبل هرمون إطلاق هرمون انبثاق البويضة LHRH، تعتمد على ساعات مستقبلات هرمون إطلاق هرمون انبثاق البويضة LHRH، ولكن ليس في خلايا UCI 107، التي لا تمثل مستقبل هرمون إطلاق هرمون انبثاق البويضة LHRH [153]. وكانت فعالية جسيمات هرمون إطلاق هرمون انبثاق البويضة LHRH النانوية المنسقة أكثر بثمانية مرات في تدمير خلايا MCF-7. وكان عدد الخلايا المتحللة يعتمد خطياً على زمن التعرض للمجال المغناطيسي، وتركيز الجسيمات النانوية. ولم تتحلل خلايا UCI 107 تحت الشروط نفسها. وتشير هذه النتائج إلى أن الاستهداف النوعي، يمكن أن يزيد من فعالية علاج الحرارة المفرطة، وتحفظ الأعضاء الأخرى بدون تأثير.

لقد استعرض ضوء الأشعة تحت الحمراء القريبة (NIR) كبديل للتعرض لمجال مغناطيسي متناوب AFM المتعلق بالتدمير الحراري لنسيج الورم. وتتكون أصداف الذهب النانوية المصنعة من سيليكاً كجسيمات قلب محاطة بصدف ذهب رقيقة مغلفة

ببولي إيثيلين جليكول PEG، وتمتلك مثل هذه الجسيمات رنين بلازمون انضباطي خلال التعرض للضوء. ويمكن التحكم في السمك النسبي للقلب وطبقات الصدفة؛ مما يؤدي إلى امتصاص ضوئي متنوع من منطقة الأشعة فوق البنفسجية القريبة إلى منتصف منطقة الأشعة تحت الحمراء. وقد عرض ضوء الأشعة تحت الحمراء القريبة NIR أدنى امتصاص في النسيج بالاختراق الأمثل. وتم حقن الأصداف النانوية في أورام الفئران الحاملة للطعم الهجين، وعُرضت لضوء الأشعة تحت الحمراء القريبة (٨٢٠ نانومتر، ٤ وات سم^{-٢}). وفي غضون من ٤-٦ دقائق، حدثت زيادة في درجة الحرارة ٣٧°م في منطقة الورم [154]؛، مما أدى إلى حدوث نخر. وتعرض جسيمات سيليكات صدفية الذهب النانوية أطياص امتصاص مختلفة، تعتمد على سمك الصدفة، الجسيمات بنصف قطر قلب ٦٠ نانومتر، مع صدفة بسمك ٢٠ نانومتر، لها أقصى امتصاص عند طول موجي $\lambda = 680$ نانومتر، مقابل صدفة بسمك ٥ نانومتر، والتي تعطي أقصى امتصاص عند طول موجي $\lambda = 1000$ نانومتر [155]، وتعد هذه الجسيمات المصنعة فريدة من نوعها، حيث إنها جسيمات انضباطية؛ لأنه يمكن تصميم خواص امتصاصها أثناء عملية التصنيع؛ مما يجعلها مناسبة جداً للتصوير (تشتت الضوء في المقام الأول)، أو علاج أساسه حراري ضوئي (الامتصاص في المقام الأول). وقد أدى تعرض خلايا السرطان خارج الجسم لجسيمات سيليكات الذهب النانوية الماصة للأشعة تحت الحمراء القريبة NIR، متبوعة بتشعيع ليزر الأشعة تحت الحمراء القريبة، إلى التدمير الحراري الضوئي للخلايا. أما داخل الجسم، فعندما حقنت الأصداف النانوية داخل الورم (خلايا TVT الكلبيية)، وتم التشعيع بضوء الأشعة تحت الحمراء القريبة NIR لمدة ٦ دقائق (٨٢٠ نانومتر، ٤ وات سم^{-٢})، فقد أدى ذلك إلى نخر خلية الورم خلال فترة من ٤-٦ دقائق، عبر امتداد منطقة التلف الحراري ٤ ملم. وحدث التسخين على مرحلتين: الأولى تسخين سريع، والثانية تسخين تدريجي. وانتشرت الأصداف

النانوية في كافة أنحاء نسيج الورم والنسيج المجاور، وسببت تجلط الدم، وتقلص الخلية في المناطق المجاورة، التي تم اختراقها من قبل الأصداف النانوية. وعلاوة على ذلك، بقيت الأنسجة المحيطة سليمة [154].

في أسلوب آخر، تم استخدام جسيمات فلزية نانومترية لاستهداف أنسجة وتراكيب بيولوجية محددة، وذلك من خلال التحكم في عملية التحلل المستحثة بالليزر. حتى الآن لم تكن هناك أي تقارير عن تطبيق ناجح للمعالجة بالحرارة المفرطة في البشر، على الرغم من أن المعالجة كانت فعالة جداً في الدراسات الحيوانية. وفي البشر يكون من الصعب الحصول على كميات كافية من الجسيمات النانوية المغناطيسية في الأنسجة المستهدفة، دون تجاوز الكمية المسموح بها، نظراً لأنه في البشر، يجب أن يكون تطبيق المجال المغناطيسي الخارجي أقوى من قوة المجال المسموح. كما يتم مقاومة تسخين الأنسجة من قبل الدورة الدموية؛ مما يخلق تأثير التبريد. إن حجم نسيج الورم الذي يحتاج لأن يكون ساخناً، هو عامل محدد، ويجب ألا يتجاوز ٣٠٠ ملم^٣ [150، 156]. وقد تم الإعلان عن الجرعة القصوى المسموح بها للبشر، لتكون $H \times f = 4.85 \times 10^8 \text{ Am}^{-1} \text{ s}^{-1}$ [157]، وبالإضافة إلى ذلك، بسبب عمق النسيج فقدان قوة المجال. وتم تحقيق عمق مستهدف ٨-١٢ سم مع حجم الجسيم، الذي يتراوح من ٠.٥-٥ ميكرومتر في نموذج الخنزير [116].

١١,٩ التوصيل المحكوم لعقاقير العلاج الكيميائي باستخدام الجسيمات النانوية

Controlled Delivery of Chemotherapeutic Drugs Using Nanoparticles

إن أنظمة الإطلاق المتحكم فيه مازالت تجتذب اهتمام العديد من المجموعات البحثية؛ بسبب تطبيقها في مدى عريض من المجالات، مثل توصيل الأدوية، والورق، والمبيدات الحشرية، والطباعة، ومستحضرات التجميل، وهلم جرا [158, 159]. لقد

تركز معظم العمل حتى الآن على تحقيق الإطلاق المحكوم للمكونات النشطة، المغلفة في مصفوفات بوليميرية بالاستجابة لمحفزات محددة [159-161] أو على استخدام تقنية التصنيع الدقيق [162]. وقد أدى التقدم في تقنية الأنظمة الكهروميكانيكية الدقيقة (MEMS) إلى إدخال المزيد من التحسينات في أنظمة توصيل العقاقير القائمة على زرع رقاقة دقيقة [136, 158, 163]. ولطريقة التوصيل تأثير كبير على الكفاءة العلاجية في مجال توصيل العقاقير [159, 164]. كما يجري الآن تصميم أنظمة توصيل أكثر تعقيداً؛ لتوصيل مستهدف الجينات باستخدام ناقلات فيروسية، وليبوسومات، وجسيمات نانوية كاتيونية [164].

من الأساليب المذكورة، تبدو الرقائق الدقيقة والبوليمرات المتجاوبة (سريعة الاستجابة)؛ لتكون الطرائق الأكثر تنوعاً لإطلاق العقاقير المحكوم. إن أنظمة توصيل العقاقير المستندة على بوليمرات لإطلاق محكوم معروفة جيداً، وكانت رائجة لتوصيل تشكيلة متنوعة من العقاقير [165-167]. كما تم تصميمها للاستجابة لمحفزات محددة، مثل الموجات فوق الصوتية، والضوء، والإنزيمات، ودرجة الحرارة، والرقم الهيدروجيني pH، والمجالات الكهربائية والمغناطيسية [164]. ومن هذه المحفزات، المحفز المغناطيسي، وهو جذاب خاصة إذا كان الأسلوب هادئاً. وقد تجلّى التنظيم القابل للإنتاج من إطلاق العقار من البوليمرات في الحالات، التي طُمرت (دفنت) فيها الكرات المغناطيسية الصغيرة أو المغناطيسات الأسطوانية في مصفوفة بوليميرية تحتوي على العقار [168, 169].

والغالبية من أنظمة التوصيل المحكومة للعقاقير، يجري تطويرها للتطبيقات السريرية، حيث المرغوب فيه هو التعرض النظامي وإطلاق العقار. والبعض من هذه، هي: توصيل الأنسولين [165, 166]، ومضاد عدم اتساق ضربات القلب antiarrhythmics [166]، ومثبطات حمض المعدة [170]، ومانع الحمل [171, 172]،

وبديل هرمون عام [173, 174]، والتحصين (التمنيع) [175]. ومؤخراً فقط، كان هناك اهتمام متنامٍ بتطوير أنظمة توصيل عقار محكومة لعلاج السرطان الكيماوي [176, 177]. ويمكن تصنيف الأساليب بشكل أوسع في الأصناف التالية:

- إطلاق مستديم من خلال تحلل البوليمر.
- إطلاق متحكم فيه إنزيمياً.
- إطلاق متحكم فيه من خلال استخدام البوليمرات الحساسة للحرارة.
- إطلاق متحكم فيه كيميائياً ضوئياً.
- أنظمة إطلاق حساسة (متجاوبة) للرقم الهيدروجيني pH .
- تحلل مستحث بالليزر (LIB).
- إطلاق وسيط الموجات فوق الصوتية.

الإطلاق المستديم الذي يستخدم الجسيمات النانوية البوليمرية القابلة للتحلل الحيوي، هو أحد أكثر الأساليب شيوعاً؛ لإطلاق محكوم لعوامل علاج السرطان الكيماوية. ويعتمد الإطلاق المستديم على الطبيعة الكيميائية للبوليمر [178-182]، وطريقة التحضير [183, 184, 98]، وتعديل (تعديلات) سطح من جسيمات الدواء النانوية- البوليمر [185]. وفي دراسة مثيرة للاهتمام من قبل يو وبارك Yoo and Park، تم اقتران الدوكسوروبيسين كيميائياً بمجموعة نهاية الطرف الـ PLGA، عن طريق ترابط الأستر. وقد تم صياغة مقترن الـ PLGA بالدوكسوروبيسين والدوكسوروبيسين في جسيمات نانوية، وقد لوحظت ملامح الإطلاق المستديم (على فترة ١ شهر) بالحد الأدنى من دفعات أولية [186]. وعلى النقيض من ذلك، عندما كان الدوكسوروبيسين حراً غير مقترن، ومدججاً في جسيمات نانوية، كانت الدفعة الأولية غائبة، وتم إطلاق كامل العقار في غضون ٥ أيام. لقد أدى اقتران العقاقير المضادة للسرطان بالجسيمات النانوية البوليمرية إلى أشكال إطلاق العقار الخطية على فترة ممتدة [187, 188].

لقد ذكرت أمثلة عن الأساليب التي أُخذت فيها الخواص الفسيولوجية للخلايا السرطانية بعين الاعتبار عند تصميم أنظمة إطلاق متحكم فيه لعوامل مضادة للسرطان، مثل الأوعية الدموية، وهي خاصية فسيولوجية محددة للخلايا السرطانية. وقد ثبت وجود نظام إطلاق محكوم لعقار مضاد للسرطان، ترانس-ترانس-الريتينويك (atRA)، استناداً على التحلل الأنزيمي [189]. وفي هذه الدراسة، أطلقت جسيمات الجيلاتين المرتبطة ببولي إيثيلين جلايكول PEGylated النانوية الحاملة حمض آل-ترانس-الريتينويك atRA العقار المضاد للسرطان بشكل حساس جداً، بفعل إنزيم كولا جيناز IV، وهو أحد إنزيمات البروتياز الفلزية الرئيسة المشاركة في تكوين الأوعية الدموية. وبالمثل فإن قيم الرقم الهيدروجيني pH في النسيج الخلالي للورم، تكون أقل من تلك القيم في الخلايا الطبيعية، ويمكن استغلال هذا الفرق لتطوير الجسيمات النانوية البوليمرية الحساسة للرقم الهيدروجيني pH؛ لإطلاق محكوم للعوامل المضادة للسرطان. وهناك فئة جديدة من البوليمرات الحساسة للرقم الهيدروجيني تحمل الدوكسوروبيسين (أدرياميسين) العامل المضاد للسرطان، وقد تم تحضيرها باستخدام سلفا ثنائي الموكسين sulfadimethoxine، وخلات بولولان سكسينيلات. وتبين أن الجسيمات النانوية كانت مستقرة جداً في الرقم الهيدروجيني الفسيولوجي pH 7.4، لكنها أظهرت تحللاً للدوكسوروبيسين المتحرر عند رقم هيدروجيني، يقترب من الرقم الهيدروجيني الفسيولوجي للخلايا السرطانية [190].

لقد فُحص الأسلوب الآخر لإطلاق محكوم لعلاجات السرطان الكيماوية، مستفيداً من الخواص الحرارية والكيماوية الضوئية للجسيمات النانوية البوليمرية. وقد أعلن يوشينوبو Yoshinobu وآخرون [191]، عن تصميم جسيمات نانوية مركبة من الأكريليك، مبتكرة بقلب كاره للماء، وصدفة قابلة للانتفاش (للاتفاخ) بشكل حساس للحرارة، تُظهر نمطاً حرارياً حساساً لإطلاق العقار. وقد أظهرت الكبسولات

الدقيقة استجابة سريعة جداً وبشكل استثنائي لإطلاق العقار بطريقة حساسة للحررة. وقد وصف سيرشين Sershen وآخرون [192] أيضاً توصيل عقار منظم حرارياً ضوئياً باستخدام أصداف الذهب النانوية.

١١,١٠ جسيمات نانوية للتحايل على مقاومة العقاقير المتعددة

Nanoparticles to Circumvent MDR

تم تعريف عدم الاستجابة للعلاج الكيماوي بمقاومة العقاقير المتعددة (MDR) multidrug resistance، التي تتضمن آلية لتجنب العلاج الكيماوي. إن الـ Pgp يتعرف على العقاقير، عندما تكون واقعة على غشاء البلازما، ولكنه لا يستطيع التعرف عليها في العصارة الخلوية من المنطقة الليزوزومية [193, 194]. وقد أظهر الدوكسوروبيسين، وهو ركيزة لـ Pgp؛ لكي يتم تصديره من العصارة الخلوية في بطانات خلايا سرطانية المقاومة للعقاقير المتعددة. ويجب أن تدخل الجسيمات النانوية التي تتحايل على مقاومة العقاقير المتعددة عن طريق آلية الـ Pgp في خلايا الورم؛ لكي تكون فعالة. وقد أُعلن عن أسلوبين يستخدمان كرات نانوية محملة بالدوكسوروبيسين PIBCA والـ PIHCA، في محاولة لتجنب مقاومة العقاقير المتعددة. وفي حالة كرات الدوكسوروبيسين PIHCA النانوية، كان تركيز الدوكسوروبيسين الخلوي أقل في خلايا ورم أرومي دبقي مقاوم الدوكسوروبيسين، مقارنة لتلك المرصودة بالدوكسوروبيسين الحر [194]. وكانت كرات الدوكسوروبيسين النانوية فعالة فقط في حالة ما إذا كانت مقاومة العقاقير المتعددة مستندة على الـ Pgp. وعندما تم استخدام بوليمر سريع التحلل لتغليف الدوكسوروبيسين في بطانة خلية سرطان دم الفئران، مقاوم الدوكسوروبيسين الممثلة بفرط عن الـ Pgp، كان تركيز الدوكسوروبيسين الخلوي مرتفعاً، وكان ضخ الدوكسوروبيسين مماثلاً لذلك، الذي شوهد مع مجموعة الدوكسوروبيسين الحرة.

لقد تحللت كرات ال PIBCA النانوية قبل دخولها المنطقة الخلوية [195]. وهكذا ارتبط الدوكسوروبيسين عند التركيز العالي بغشاء خلية الورم، كونه خارج الأوعية من خلال مضخة دفع ال Pgp. وقد أدى اقتران الدوكسوروبيسين مع بولي ميثاكريلات polymethacrylate إلى استيعاب الجسيمات خلال الابتلاع الحيوي في خلايا سرطانية شبيهة بخلية وحيدة مقاومة الدوكسوروبيسين U937. وأظهرت هذه الجسيمات إطلاق دوكسوروبيسين بطيء مستديم؛ مما أدى إلى سمية خلوية كبيرة أعلى من الدوكسوروبيسين الحر [196].

لقد أُجريت محاولات أخرى عديدة؛ لزيادة توصيل الدوكسوروبيسين إلى الخلايا السرطانية المقاومة. ولقد أظهر الدوكسوروبيسين المدمج في كرات جيلاتين نانوية سمية خلوية منخفضة في فأر مطعم بسرطان قولون؛ حتى لوحظت زيادة السمية القلبية. وكان من المنتظر أن تسبب التأثيرات المختلفة نتيجة بطء تفكك معقدات دوكسوروبيسين الكرات النانوية، ويطء معدل الانتشار عبر غشاء الخلية، وفشل دخول المعقد إلى الخلايا، وارتفاع إطلاق العقار في غشاء الخلية. ويمكن تجنب مقاومة العقاقير المتعددة فقط، عندما يتحقق الاتصال المباشر بالبولي سيانو أكريلات [197].

وقد أدى امتصاص وسيط مستقبل الفولات من ليوسومات فسفاتيديل إيثانول أمين ثنائي استرريل بولي إيثيلين جليكول (٧٠-١٠٠ نانومتر) المحملة بدوكسوروبيسين؛ إلى امتصاص العصارة الخلوية، وإطلاق الدوكسوروبيسين في السيتوبلازم. وكان إطلاق الدواء خلال ساعتين خارج الجسم في الخلايا السرطانية المقاومة للعقاقير المتعددة M109-HiFR. لقد ارتفع امتصاص عقار الليوسوم مستهدف حمض الفولات بعشرة أضعاف، مقارنة إلى الدوكسوروبيسين الحر، وكان أكثر سمية داخل الجسم من الدوكسوروبيسين الحر [198].

إن إيصال الدوكسوروبيسين بليبوسومات مستهدفة الفولات لم يتفادَ نظام دفع الـ Pgp، والذي تم تفسيره بشكل تجمع الدوكسوروبيسين في جسيمات ليبوسومية نانوية تستهدف الفولات، وقد اقترح أن الدوكسوروبيسين المغلف يكون ثنائي الوحدة [199]. وتم حقن الدوكسوروبيسين المحمل في كرات نانوية (٣٠٠ نانومتر)، تتكون من بولي سيانوأكريلات في خلايا اللوكيميا (سرطان الدم) (P388ADR-) للغشاء البروتيني لفئران حاملة لطعم هجيني. وقد أطالت المعالجة بقاء الفئران على قيد الحياة، مقارنة بتعاطي الدوكسوروبيسين الحر، والذي كان غير مؤثر. وعلى أية حال، لم يتم الحصول على أي معالجة، سواء كانت المدارة بالدوكسوروبيسين الحر، أو بالجسيمات النانوية. وكان نصف التركيز المثبط الأقصى IC50 خارج الجسم، هو ٤.٣ ميكرومول للدوكسوروبيسين الحر، مقابل ٠.٠٨ ميكرومول للكرات النانوية المحملة بالدوكسوروبيسين. وكانت بطانات الخلايا المقاومة للعقاقير المتعددة أكثر حساسية من ٣٠ إلى ٢٥٠ ضعفا للكرات النانوية المحملة بالدوكسوروبيسين من الدوكسوروبيسين الحر، وحتى الانحسار الكامل من المقاومة للعقاقير المتعددة، تم ملاحظته في بعض بطانات الخلايا. وكانت الكرات النانوية PIHCA المحملة بالدوكسوروبيسين قابلة للتحلل الحيوي؛ ودخلت الكرات النانوية بحجم ٢٠٠ نانومتر الخلايا عن طريق الابتلاع الخلوي، وتم إيصال الدوكسوروبيسين إلى الليوسومات. ولم يتم التعرف على كرات نانوية محملة بالدوكسوروبيسين من قبل الـ Pgp، وبذلك تم التحايل على مقاومة العقاقير المتعددة.

١١,١١ المشاكل المحتملة في استخدام الجسيمات النانوية لعلاج السرطان

Potential Problems in Using Nanoparticles for Cancer Treatment

تتضمن المشاكل المحتملة المرتبطة باستخدام الجسيمات النانوية داخل الجسم مخاطر تجلط الدم خلال تكتل الجسيمات أو نواتج تحللها. وقد أجريت معظم التجارب

على القوارض، ويكون من الصعب رفعها إلى البشر، فيما يتعلق بالأبعاد والحجم في الدوران، وكثافات النسيج، وكمية الجسيمات المطلوبة. ومن الضروري أن تؤخذ هذه المشكلة في الحسبان، إذا كان إطلاق العقار لا يمكن التحكم فيه بالمجال المغناطيسي. وهناك دائماً السمية المحتملة من الناقل المغناطيسي، أو بوليمرات التغليف ونواتج تحللها، والتي قد تحدث بعد التعرض لفترة طويلة أو الحقن. كما يمكن أن يؤدي تطبيق المجال المغناطيسي الخارجي، إلى عدم انتظام ضربات القلب وتحفيز العضلات، والنوبات المرضية، والتي تستلزم المراقبة عن كثب، وبعض المرضى قد لا يكونون مؤهلين لهذه التطبيقات الخاصة.

١١, ١٢ النظرة المستقبلية Future Outlook

يتطلب البحث والتطوير بمجال تقنية النانو في تطبيقات - مثل الطب الحيوي - الفهم والتفاعل بين الخبراء في علوم الفيزياء، والرياضيات، والعلوم الطبية الحيوية، والكيميائيين، والعاملين في المجال الطبي. إن الإمكانية لاستخدام الجسيمات النانوية في مهمة توصيل العقاقير، وكشف المرض كبيرة، وقد تُغير الطريقة المستخدمة حالياً من أنظمة توصيل العقار. وتقدم الجسيمات النانوية إمكانية التطبيق الواسع، وتمثل المرونة الكافية لتصميم مخصص لنظام المعالجة في المستقبل. وسيتم التركيز في المستقبل على كشف النقائل والعلاج، بهدف استئصال السرطان في نهاية المطاف كمرض.

شكر وتقدير Acknowledgements

يود المؤلفون أن يشكروا جانيس كينر Janice Keener، وأريك جويليو Eric Guilbeau من مركز بنجتون للأبحاث الحيوية Pennington Biomedical Research Center؛ لمساعدتهم في إعداد المتن وبعض الأشكال.

الاختصارات Abbreviations

مجال مغناطيسي متناوب	AMF
البروتين الدهني (بروتين يرتبط بالدهون) E	Apo E
إرينوتيكان	CPT
الحمض النووي (حمض ديسوكسي ريبونوكليك)	DNA
مجال مغناطيسي خارجي	EMF
فسفاتيديل كولين البيض	EPC
الاستبقاء والنفاذية محسنة	EPR
٥- فلورويوراسيل	5 FU
جادولينيوم- ثنائي إيثيلين رباعي أمين خماسي حمض الخليك	GD-DTPA
علاج بأسر نيوترون الجادولينيوم	GdNCT
بروتين متفلور أخضر	GFP
نصف التركيز المثبط الأقصى	IC50
هرمون إطلاق هرمون انبثاق البويضة	LHRH
مقاومة العقاقير المتعددة	MDR
نظام البلعمة وحيد النوى	MPS
الجرعة القصوى المحتملة	MTD
الأشعة تحت الحمراء القريبة	NIR
جسيمات نانوية	NP
كرات نانوية	NS
خلات البولولان	PA

بولي كبرولاكتون	PCL
بولي إيثيلين جلايكول	PEG
البولي إيثيلين أكسيد	PEO
p-جليكوبروتين (بروتين سكري)	Pgp
فوسفوليبيد	PL
بولي ايزوبيوتيل سيانو اكريلات	PIBCA
بولي ايزوهكسيل سيانو اكريلات	PIHCA
حمض الجليكوليك بولي لاكتيد	PLGA
البولي (ميثيل ميثا اكريلات)	PMMA
بولي فينيل بيروليدين	PVP
الجهاز الشبكي البطاني	RES
معدل قدرة الامتصاص النوعي	SAR
عامل نخر الورم ألفا- α	TNF- α
عامل نمو بطانة الأوعية الدموية	VEGF

المراجع References

- 1 NSF report on "Societal implications of Nanoscience and Nanotechnology", March 2001.
- 2 J. M. Nam, S. Park, C. A. Mirkin, Bio-barcode based on oligonucleotide-modified nanoparticles, *J. Am. Chem. Soc.* 2002, 124, 3820–3821.
- 3 A. S. Lubbe, C. Alexiou, C. Bergemann, Clinical applications of magnetic drug targeting, *J. Surg. Res.* 2001, 95, 200–206.
- 4 L. Illum, A. E. Church, M. D. Butterworth, A. Arien, J. Whetstone, S. S. Davis, Development of systems for targeting the regional lymph nodes for diagnostic imaging: in vivo behavior of colloidal PEG-coated magnetite nanospheres in the rat following interstitial administration, *Pharm. Res.* 2001, 18, 640–645
- 5 L. K. Komissarova, A. A. Kuznetsov, N. P. Gluchoedov, M. V. Kutushov, M. A. Pluzan, Absorptive capacity of iron-based magnetic carriers for blood detoxification, *J. Magn. Magn. Mater.* 2001, 225, 197–201

- 6 Cancer Statistics, American Cancer Society, 2004.
- 7 M. De Lena, C. Brambilla, A. Morabito, G. Bonadonna, Adriamycin plus vincristine compared to and combined with cyclophosphamide, methotrexate and 5-fluorouracil for advanced breast cancer, *Cancer* 1975, 35, 1108–1115.
- 8 J. M. Bull, D. C. Tormey, S. H. Li, P. P. Carbone, G. Falkson, J. Blom, E. Perlin, R. Simon, A randomized comparative trial of adriamycin versus methotrexate in combination drug therapy, *Cancer* 1978, 41, 1649–1657.
- 9 R. J. Santen, Endocrine treatment of prostate cancer, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1992, 75, 685–689.
- 10 J. L. Emmet, L. F. Greene, A. Papantoniou, Endocrine therapy in carcinoma of the prostate gland: 10-year survival studies, *J. Urol.* 1960, 83, 471–484.
- 11 R. M. O'Regan, V. C. Jordan, Tamoxifen to raloxifene and beyond, *Semin Oncol* 2001, 28, 260–273.
- 12 S. A. Eccles, G. Box, W. Court, J. Sandle, C. J. Dean, Preclinical models for the evaluation of targeted therapies of metastatic disease, *Cell Biophys.* 1994, 24–25, 279–291.
- 13 K. Pantel, M. Otte, Occult micrometastasis: enrichment, identification and characterization of single disseminated tumour cells, *Semin. Cancer Biol.* 2001, 11, 327–337.
- 14 C. J. Mettlin, G. P. Murphy, R. Ho, H. R. Menck, The National Cancer Database report on longitudinal observations on prostate cancer, *Cancer* 1996, 77, 2162–2166.
- 15 C. S. B. Galasko, "The anatomy and pathways of skeletal metastases", in L. Weiss, A. H. Gilbert (eds.) Bone metastases, Boston, GK Hall, 1981, pp. 49–63.
- 16 K. Pantel, R. J. Cote, O. Fodstad, Detection and clinical importance of micrometastatic disease, *J. Nat. Cancer Inst.* 1999, 91, 1113–1124.
- 17 S. Honig, Hormonal therapy and chemotherapy, in J. R. Harris, M. E. Lippman, M. Morrow, S. Hellman (eds.) Diseases of the breast, Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1996, pp. 669–734.
- 18 S. Braun, and K. Pantel, Biological characteristics in micrometastatic cancer cells in bone marrow, *Cancer Metastasis Rev.* 1999, 18, 75–90.
- 19 M. Kavallaris, D. Y. Kuo, C. A. Burkhart, D. L. Regl, M. D. Norris, M. Haber, S. B. Horwitz, Taxol-resistant epithelial ovarian tumors are associated with altered expression of specific beta-tubulin isotypes, *J. Clin. Invest.* 1997, 100, 1282–1293.
- 20 M. Lehnert, S. Emerson, W. S. Dalton, R. de Giuli, S. E. Salmon, In vitro evaluation of chemosensitizers for clinical reversal of P-glycoprotein-associated Taxol resistance, *J. Natl. Cancer Inst. Mongr.* 1993, 15, 63–67.
- 21 N. Baldini, K. Scotlandi, M. Serra, T. Shikita, N. Zini, A. Ognibene, S. Santi, R. Ferracini, N. M. Maraldi, Nuclear immunolocalization of P-glycoprotein in multidrug-resistant cell lines showing similar mechanisms of doxorubicin distribution, *Eur. J. Cell Biol.* 1995, 68, 226–239.

- 22 A. Molinari, A. Calcabrini, S. Meschini, A. Stringaro, D. Del Bufalo, M. Cianfriglia, G. Arancia, Detection of P-glycoprotein in the Golgi apparatus of drug-untreated human melanoma cells, *Int. J. Cancer* 1998, 75, 885–893.
- 23 J. Hamada, T. Tsuruo, Characterization of the ATPase activity of the 170 to 180 kilodalton membrane glycoprotein associated with multidrug resistance: the 170 to 180 kilodalton membrane glycoprotein is an ATPase, *J. Biol. Chem.* 1988, 263, 1454–1458.
- 24 R. Krishna, L. D. Mayer, Multidrug resistance (MDR) in cancer – mechanisms reversal using modulators of MDR and the role of MDR modulators in influencing the pharmacokinetics of anticancer drugs, *Eur. J. Cancer Sci.* 2000, 11, 265–283.
- 25 J. C. Murray, J. Carmichael, Targeting solid tumours: challenges, disappointments and opportunities, *Adv. Drug. Del. Rev.* 1995, 17, 117–127.
- 26 R. K. Jain, Molecular regulation of vessel maturation, *Nat. Med.* 2003, 9, 685–93.
- 27 T. P. Padera, B. R. Stoll, J. B. Tooredman, D. Capen, E. di Tomaso, R. K. Jain, Pathology: cancer cells compress intratumour vessels, *Nature* 2004, 427, 695.
- 28 K. Weindel, J. R. Moringlane, D. Marme, H. A. Weich, Detection and quantification of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor in brain tumor tissue and cyst fluid: the key to angiogenesis? *Neurosurgery* 1994, 35, 439–449.
- 29 S. P. Olesen, Rapid increase in blood brain barrier permeability during severe hypoxia and metabolic inhibition, *Brain Res.* 1986, 368, 24–29.
- 30 S. K. Hobbs, W. L. Monsky, F. Yuan, W. G. Roberts, L. Griffith, V. P. Torchilin, R. K. Jain, Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and microenvironment, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998, 95, 4607–4612.
- 31 F. Yuan, M. Dellian, D. Fukumura, M. Leunig, D. A. Berk, V. P. Torchilin, R. K. Jain, Vasular permeability in human tumor xenograft: molecular size dependence and cut-off size, *Cancer Res.* 1995, 55, 3752–3756.
- 32 S. Unezaki, K. Maruyama, J. I. Hosoda, I. Nagae, Y. Koyanagi, M. Nakata, O. Ishida, M. Iwatsuru, S. Tsuchiya, Direct measurement of the extravasation of polyethyleneglycol-coated liposomes into solid tumor tissue by in vivo fluorescence microscopy, *Int. J. Pharm.* 1996, 144, 11–17.
- 33 W. L. Monsky, D. Fukumura, T. Gohongi, M. Ancukiewicz, H. A. Weich, V. P. Torchilin, R. K. Jain, Augmentation of transvascular transport of macromolecules and nanoparticles in tumors using vascular endothelial growth factor, *Cancer Res.* 1999, 59, 4129–4135.
- 34 Y. Boucher, M. Leunig, R. K. Jain, Tumor angiogenesis and interstitial hypertension, *Cancer Res.* 1996, 56, 4264–4266.
- 35 G. Helmlinger, P. A. Netti, H. C. Lichtenbeld, R. J. Melder, R. K. Jain, Solid stress inhibits the growth of multicellular tumor spheroids, *Nat. Biotechnol.* 1997, 15, 778–783.
- 36 R. K. Jain, Transport of molecules in the tumor interstitium: a review, *Cancer Res.* 1987, 47, 3039–3051.
- 37 R. K. Jain, Barriers to drug delivery in solid tumors, *Sci. Am.* 1994, 271, 58–65.

- 38 P. E. Thorpe, F. J. Burrows, Antibody-directed targeting of the vasculature of solid tumors, *Breast Cancer Res. Treat.* 1995, 36, 237–251.
- 39 H. Maeda, The enhanced permeability and retention effect in tumor vasculature, the key role of tumor sensitive macromolecular drug targeting, *Adv. Enzyme Regul.* 2001, 41, 189–207.
- 40 H. Maeda, Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review, *J. Control. Release* 2000, 65, 271–284.
- 41 P. Tartaj, M. Morales, S. Veintemillas Verdaguier, T. Gonzalez-Carreno, C. J. Serna, The preparation of magnetic nanoparticles for applications in biomedicine, *J. Phys. D Appl. Phys.* 2003, 36, R182–183
- 42 R. Gref, Y. Minamitake, M. T. Peracchia, V. Trubetskoy, V. Torchilin, R. Langer, Biodegradable long-circulating polymeric nanospheres, *Science* 1994, 263, 1600–1603.
- 43 S. M. Moghimi, A. C. Hunter, J. C. Murray, Long circulating and target specific nanoparticles: theory to practice, *Pharm. Rev.* 2001, 53, 283–218.
- 44 G. Storm, S. O. Belliot, T. Daemen, D. D. Lasic, Surface modification of nanoparticles to oppose uptake by the mononuclear phagocyte system, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 1995, 17, 31–48.
- 45 J. Kreuter, Drug targeting with nanoparticles, *Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokinet.* b, 19, 253–256.
- 46 L. Araujo, R. Lobenberg, and J. Kreuter, Influence of the surfactant concentration of the body distribution of nanoparticles, *J. Drug. Target* 1999, 6, 373–385.
- 47 V. Lenaerts, J. F. Nagelkerke, T. J. Van Berkel, P. Couvreur, L. Grislain, M. Roland, P. Speiser, In vivo uptake of polyisobutyl cyanoacrylate nanoparticles by rat liver Kupffer, endothelial, and parenchymal cells, *J. Pharm. Sci.* 1984, 73, 980–982.
- 48 P. Couvreur, B. Kante, V. Lenaerts, V. Scailteur, M. Roland, P. Speiser, Tissue distribution of antitumor drugs associated with polyalkylcyanoacrylate nanoparticles, *J. Pharm. Sci.* 1980, 69, 199–202.
- 49 A. Chonn, S. C. Semple, P. R. Cullis, Separation of large unilamellar liposomes from blood components by a spin column procedure: towards identifying plasma proteins which mediate liposome clearance in vivo, *Biochim. Biophys. Acta* 1991, 1070, 215–222.
- 50 F. Yuan, Transvascular drug delivery in solid tumors, *Semin. Radiat. Oncol.* 1998, 8, 164–175, 1998.
- 51 Y. Noguchi, J. Wu, R. Duncan, J. Strohm, K. Ulbrich, T. Akaike, H. Maeda, Early phase tumor accumulation of macromolecules: a great difference in clearance rate between tumor and normal tissues, *Jpn. J. Cancer Res.* 1998, 89, 307–314.
- 52 R. Weissleder, H. C. Cheng, A. Bogdanova, A. Bogdanov Jr., Magnetically labeled cells can be detected by MR imaging, *J. Magn. Reson. Imaging* 1997, 7, 258–263.
- 53 T. C. Yeh, W. Zhang, S. T. Ildstad, C. Ho, Intracellular labeling of T-cells with superparamagnetic contrast agents, *Magn. Reson. Med.* 1993, 30, 617–625.

- 54 U. Schoepf, E. M. Marecos, R. J. Melder, R. K. Jain, R. Weissleder, Intracellular magnetic labeling of lymphocytes for in vivo trafficking studies, *Biotechniques* 1998, 24, 642–646, 648–651.
- 55 A. Moore, J. P. Basilion, E. A. Chiocca, R. Weissleder, Measuring transferrin receptor gene expression by NMR imaging, *Biochim. Biophys. Acta* 1998, 1402, 239–249.
- 56 J. Panyam, W. Z. Zhou, S. Prabha, S. K. Sahoo, V. Labhasetwar, Rapid endolysosomal escape of poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles: implications for drug and gene delivery, *FASEB J.* 2002, 16, 1217–26.
- 57 T. T. Shen, A. Bodganov, A. Bogdanov, K. Poss, T. J. Brady, R. Weissleder, Magnetically labeled secretin retains receptor affinity to pancreas acinar cells, *Bioconjug. Chem.* 1996, 7, 311–316.
- 58 D. Portet, B. Denizot, E. Rump, J. J. Lejeune, P. Jallet, Nonpolymeric coatings of iron oxide colloids for biological use as magnetic resonance imaging contrast agents, *J. Coll. Interface Sci.* 2001, 238, 37–42.
- 59 I. Brigger, C. Dubernet, P. Couvreur, Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis, *Adv. Drug. Del. Rev.* 2002, 54, 631–651.
- 60 L. M. Lacava, Z. G. Lacava, M. F. Da Silva, O. Silva, S. B. Chaves, R. B. Azevedo, F. Pelegrini, C. Gansau, N. Buske, D. Sabolobic, P. C. Morais, Magnetic resonance of a dextran coated magnetic fluid intravenously administered in mice, *Biophys. J.* 2001, 80, 2483–2486.
- 61 A. E. Hawley, L. Illum, S. S. Davis, Preparation of biodegradable, surface engineered PLGA nanospheres with enhanced lymphatic drainage and lymph node uptake, *Pharm. Res.* 1997, 14, 657–661.
- 62 A. E. Hawley, L. Illum, S. S. Davis, Lymph node localisation of biodegradable nanospheres surface modified with poloxamer and poloxamine block copolymers, *FEBS Lett.* 1997, 400, 319–323.
- 63 G. Schwab, C. Chavney, Antisense oligonucleotides adsorbed to polyalkylcyanoacrylate nanoparticles specifically inhibit mutated HA-RAS-mediated cell-proliferation and tumorigenicity in nude mice, *PNAS* 1994, 91, 10460–10464.
- 64 G. Blume, G. Cevc, Liposomes for the sustained drug release in vivo, *Biochim. Biophys. Acta* 1990, 1029, 91–97.
- 65 R. L. Hong, C. J. Huang, Y. L. Tseng, V. F. Pang, S. T. Chen, J. J. Liu, F. H. Chang, Direct comparison of liposomal doxorubicin with or without polyethylene glycol coating in C-26 tumor bearing mice: Is surface coating with polyethylene glycol beneficial? *Clin. Cancer Res.*, 1999, 5, 3645–3652.
- 66 K. Moribe, K. Maruyama, M. Iwatsuru, Estimation of surface state of poly(ethylene glycol)-coated liposomes using an aqueous two phase partitioning technique, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 1997, 45, 1683–1687.
- 67 H. Ishiwata, S. B. Sato, S. Kobayashi, M. Oku, A. Vertut-Doi, K. Miyajima, Poly(ethylene glycol) derivative of cholesterol reduces binding step of liposome uptake by murine macrophage-like cell line J774 and human hepatoma cell line HepG2, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 1998, 46, 1907–1913.

- 68 J. Lode, I. Fichtner, J. Kreuter, A. Berndt, J. E. Diederichs, R. Reszka, Influence of surface- modifying surfactants on the pharmacokinetic behavior of ¹⁴C-polymethylmethacrylate nanoparticles in experimental tumor models, *Pharm. Res.* 2001, 18, 1613–1619.
- 69 D. Bazile, C. Prud'homme, M. T. Bassoulet, M. Marlard, G. Spenlehauer, M. Veillard, Stealth Me PEG-PLA nanoparticles avoid uptake by mononuclear phagocyte system, *J. Pharm. Sci.* 1995, 84, 493–498.
- 70 M. T. Peracchia, C. Vauthier, Puisieux, P. Couvreur, Development of sterically stabilized poly isobutyl 2 cyano acrylate nanoparticles by chemical coupling of poly ethylene glycol, *J. Biomed. Mater. Res.* 1997, 34, 317–326.
- 71 M. T. Peracchia, C. Vauthier, D. Desmaele, A. Gulik, J. C. Dedieu, M. Demoy, J. d'Angelo, P. Couvreur, Pegylated nanoparticles from a novel methoxypolyethylene glycol cyanoacrylate hexadecyl cyanoacrylate amphiphilic copolymer, *Pharm. Res.* 1998, 15, 550–556.
- 72 D. Sharma, T. P. Chelvi, J. Kaur, K. Chakravorty, T. K. De, A. Maitra, R. Ralhan, Novel taxol formulation: polyvinyl-pyrrolidone nanoparticles encapsulated taxol for drug delivery in cancer therapy, *Oncol. Res.* 1996, 8, 281–286.
- 73 S. Mitra, U. Gaur, P. C. Gosh, A. N. Maitra, Tumor targeted delivery of encapsulated dextra- doxorubicin conjugate using chitosan nanoparticles as carrier, *J. Control Release* 2001, 74, 317–323.
- 74 C. Verdun, F. Brasseur, H. Vranckx, P. Couvreur, M. Roland, Tissue distribution of doxorubicin associated with polyheyl cyanoacrylate nanoparticles, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1990, 26, 13–18.
- 75 P. Couvreur, B. Kante, V. Lenaerts, V. Scailteur, M. Roland, P. Speiser, Tissue distribution of antitumor drugs associated with polyalkylcyanoacrylate nanoparticles, *J. Pharm. Sci.* 1980, 69, 199–202.
- 76 S. Gibaud, J. P. Andreux, C. Weingarten, M. Renard, P. Couvreur, Increased bone marrow toxicity of doxorubicin bound to nanoparticles, *Eur. J. Cancer A* 1994, 30, 820–826.
- 77 P. Couvreur, G. Couarraze, J. P. Devissaguet, F. Puisieux, Nanoparticles: preparation and characterization, in Benita S (ed) *Microencapsulation: methods and industrial application*, Marcel Dekker, New York, 1996, pp. 183–211.
- 78 D. A. LaVan, T. McGuire, R. Langer, Small scale systems for in vivo drug delivery, *Nature Biotech.* 2003, 21, 1184–1191.
- 79 S. M. Moghimi, A. C. Hunter, J. C. Murray, Long circulating and target specific nanoparticles: theory to practice, *Pharm. Rev.* 2001, 53, 283–218.
- 80 C. Dange, C. Mitchel, M. Aprahamian, P. Couvreur, J. P. Devissaguet, Nanocapsules as carriers for oral peptide delivery, *J. Control Release* 1990, 13, 233–239.
- 81 Y. Nishioka, H. Yoshino, Lymphatic targeting with nanoparticulate system, *Adv. Drug. Delivery Rev.* 2001, 47, 55–64.

- 82 K. Yang, Y. Wen, L. Li, C. Wang, S. Hou, C. Li, Preparation of cucurbitacinBE poly(lactic acid) nano-particles for targeting cervical lymph nodes, *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2001, 19, 347–50.
- 83 K. Yang, Y. Wen, L. Li, C. Wang, X. Wang, Acute toxicity and local stimulate test of cucurbitacinBE poly(lactic acid) nano-particles of targeting cervical lymph nodes, *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2001, 19, 380–382.
- 84 F. Shikata, H. Tokumitsu, H. Ichikawa, Y. Fukumori, In vitro cellular accumulation of gadolinium incorporated into chitosan nanoparticles designed for neutron-capture therapy of cancer, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2002, 53, 57–63.
- 85 H. Tokumitsu, J. Hiratsuka, Y. Sakurai, T. Kobayashi, H. Ichikawa, Y. Fukumori, Gadolinium neutron-capture therapy using novel gadopentetic acid–chitosan complex nanoparticles: in vivo growth suppression of experimental melanoma solid tumor, *Cancer Lett.* 2000, 150, 177–82.
- 86 T. Watanabe, H. Ichikawa, M. Fukumori, Tumor accumulation of gadolinium in lipid nanoparticles intravenously injected for neutron capture therapy in cancer, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2002, 54, 119–124.
- 87 N. Nishiyama, S. Okazaki, H. Cabral, M. Miyamoto, Y. Kato, Y. Sugiyama, K. Nishio, Y. Matsumura, K. Kataoka, Novel cisplatin-incorporated polymeric micelles can eradicate solid tumors in mice, *Cancer Res.* 2003, 63, 8977–8983.
- 88 R. Reszka, P. Beck, I. Fichtner, M. Hentschel, L. Richter, J. Kreuter, Body distribution of free, liposomal and nanoparticles associated mitoxantrone in B16 melanoma bearing mice, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997, 280, 232–237.
- 89 A. E. Gulyaev, S. E. Gelperina, I. N. Skidan, A. S. Antropov, G. Y. Kivman, J. Kreuter, Significant transport of doxorubicin into the brain with polysorbate 80-coated nanoparticles, *Pharm. Res.* 1999, 16, 1564–1569.
- 90 J. Kreuter, Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2000, 47, 65–81.
- 91 I. Brigger, J. Morizet, G. Aubert, H. Chacun, M. J. Terrier-Lacombe, P. Couvreur, G. Vassal, Poly(ethylene glycol)-coated hexadecylcyanoacrylate nanospheres display a combined effect for brain tumor targeting, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2002, 303, 928–936.
- 92 H. Onishi, Y. Machida, Y. Machida, Antitumor properties of irinotecan containing nanoparticles prepared using poly(DL-lactic acid) and poly(ethylene glycol)-block-poly(propylene glycol)-block-poly(ethylene glycol), *Biol. Pharm. Bull.* 2003, 26, 116–119.
- 93 C. Fonseca, S. Simoes, R. Gaspar, Paclitaxel loaded PLGA nanoparticles: preparation, physicochemical characterization and in vitro anti-tumoral activity, *J. Control Release* 2002, 83, 273–286.
- 94 Z. Lu, T. H. Yeh, M. Tsai, J. Au, G. M. Wientjes, Paclitaxel loaded gelatin nanoparticles for intravesical bladder cancer therapy, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 2003, 44, 3675.

- 95 E. Tatou, C. Mossiat, V. Maupoil, F. Gabrielle, M. David, L. Rochette, Effects of cyclosporine and cremophor on working rat heart and incidence of myocardial lipid peroxidation, *Pharmacology* 1996, 52, 1–7.
- 96 R. T. Dorr, Pharmacology and toxicology of Cremophor EL diluent, *Ann. Pharmacother.* 1994, 28, S11–S14. 97 P. Mankad, J. Spatenka, Z. Slavik, G. Oneil, A. Chester, M. Yacoub, Acute effects of cyclosporine and cremophor EL on endothelial function and vascular smooth muscle in the isolated rat-heart, *Cardiovasc. Drug. Ther.* 1992, 6, 77–83.
- 98 L. Mu, S. S. Feng, A novel controlled release formulation for the anticancer drug paclitaxel (Taxol): PLGA nanoparticles containing vitamin E TPGS, *J. Control Release* 2003, 86, 33–48.
- 99 P. L. Weiden, J. Pratt, G. Brand, Tocosol paclitaxel (vitamin E paclitaxel emulsion): multicenter phase 2A studies with weekly dosing in non small cell lung, bladder, ovarian and colorectal cancers, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 2003, 44, # R 3665.
- 100 N. K. Ibrahim, N. Desai, S. Legha, P. Soon-Shiong, R. L. Theriault, E. Rivera, B. Esmaeli, S. E. Ring, A. Bedikian, G. N. Hortobagyi, J. A. Ellerhorst, Phase I and pharmacokinetic study of ABI-007, a cremophor free protein stabilized nanoparticles formulation of paclitaxel, *Clin. Cancer Res.* 2002, 8, 1038–1044.
- 101 N. Desai, T. De, A. Yang, B. Beals, P. Soon-Shiong, Pulmonary delivery of a novel cremophor free proteinbased nanoparticle preparation of paclitaxel, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 2003, 44, # 3672.
- 102 N. Desai, T. De, A. Yang, B. Beals, V. Trieu, P. Soon-Shiong, Pulmonary delivery of a novel cremophor free proteinbased nanoparticle preparation of paclitaxel, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 2003, 44, # 3673.
- 103 J. S. Chawla, M. M. Amiji, Biodegradable poly(ϵ -caprolactone) nanoparticles for tumor targeted delivery of tamoxifen, *Internat. J. Pharmaceutics* 2002, 249, 27–138.
- 104 T. Ameller, V. Marsaud, P. Legrand, R. Gref, J. M. Renoir, In vitro and in vivo biologic evaluation of long-circulating biodegradable drug carriers loaded with the pure antiestrogen RU 58668, *Int. J. Cancer* 2003, 106, 446–454.
- 105 R. K. Gilchrist, R. Medal, W. Shorey, R. C. Hanselman, J. C. Parrott, C. B. Taylor, Selective inductive heating of lymph nodes, *Ann. Surg.* 1957, 146, 596–606.
- 106 A. E. Merbach, E. Toth, The chemistry of contrast agents, in: *Medical magnetic resonance imaging*, Chichester, Wiley, 2001.
- 107 A. S. Luebke, C. Bergeman, H. Riess, F. Schriever, P. Reichardt, K. Possinger, M. Matthia, B. Doerken, F. Herrmann, R. Guertler, P. Hohenberger, N. Haas, R. Sohr, B. Sander, A. Lemke, D. Ohlendorf, W. Huhnt, D. Huhn, Clinical experiences with magnetic drug targeting: A Phase I study with 4-epidoxorubicin in 14 patients with advanced solid tumors, *Cancer Res.* 1996, 56, 4686–4693.
- 108 B. R. Bacon, D. D. Stark, C. H. Park, S. Saini, E. V. Groman, P. F. Hahn, C. C. Compton, J. T. Ferrucci Jr., Ferrite particles: a new magnetic resonance imaging

- contrast agent. Lack of acute or chronic hepatotoxicity after intravenous administration, *J. Lab. Clin. Med.* 1987, 110, 164–171.
- 109 M. G. Harisinghani, J. Barentsz, P. F. Hahn, W. M. Deserno, S. Tabatabaei, C. H. van de Kaa, J. de la Rosette, R. Weissleder, Noninvasive detection of clinically occult lymph-node metastases in prostate cancer, *N. Engl. J. Med.* 2003, 348, 2491–2499.
- 110 A. Senyei, K. Widder, C. Czerlinski, Magnetic guidance of drug carrying microspheres, *J. Appl. Phys.* 1978, 49, 3578–3583.
- 111 P. A. Voltairas, D. I. Fotiadis, L. K. Michalis, Hydrodynamics of magnetic drug targeting, *J. Biomech.* 2002, 35, 813–821.
- 112 A. S. Luebbe, C. Bergemann, W. Huhnt, T. Fricke, H. Riess, J. W. Brock, D. Huhn, Preclinical experiences with magnetic drug targeting: tolerance and efficacy, *Cancer Res.* 1996, 56, 4694–4701.
- 113 C. Alexiou, W. Arnold, R. J. Klein, F. G. Parak, P. Huhn, C. Bergemann, W. Erhardt, S. Wagenpfeil, A. S. Luebbe, Locoregional cancer treatment with magnetic drug targeting, *Cancer Res.* 2000, 60, 6641–6648.
- 114 C. Alexiou, R. Jurgons, R. J. Schmid, C. Bergemann, J. Henke, W. Erhardt, E. Huenges, F. Parak, Magnetic drug targeting– biodistribution of the magnetic carrier and the chemotherapeutic agent mitoxantrone after locoregional cancer treatment, *J. Drug Target* 2003, 11, 139–149.
- 115 A. Moore, E. Marecos, A. Bogdanow, R. Weissleder, Tumoral distribution of long circulating dextran coated iron oxide nanoparticles in anrodent model, *Radiology* 2000, 214, 568–574.
- 116 S. Goodwin, C. Peterson, C. Hob, C. Bittner, Targeting and retention of magnetic targeted carrier (MTC) enhancing intra arterial chemotherapy, *J. Magn. Magn. Mater.* 1999, 194, 132–139.
- 117 S. Goodwin, C. A. Bittner, C. L. Peterson, G. Wong, Single dose toxicity study of hepatic intra arterial infusion of doxorubicin coupled to a novel magnetically targeted drug carrier, *Toxicol. Sci.* 2001, 60, 177–183.
- 118 A. S. Luebbe, C. Bergemann, J. Brock, and D. G. McClure, Physiological aspects in magnetic drug targeting, *J. Magn. Magn. Mater.* 1999, 194, 149–155.
- 119 S. K. Pulfer, S. L. Ciccotto, J. M. Gallo, Distribution of small magnetic particles in brain tumor bearing rats, *J. Neurol. Oncol.* 1999, 41, 99–105.
- 120 T. Kubo, T. Sugita, S. Shimose, Y. Nitta, Y. Ikuta, T. Murakami, Targeted delivery of anticancer drugs with intravenously administered magnetic liposomes in osteosarcoma bearing hamsters, *Int. J. Oncol.* 2000, 17, 309–315.
- 121 T. Kubo, T. Sugita, S. Shimose, Y. Nitta, Y. Ikuta, T. Murakami, Targeted systemic chemotherapy using magnetic liposomes with incorporated adriamycin for osteosarcoma in hamsters, *Int. J. Oncol.* 2001, 18, 121–126.
- 122 M. O. Oyewumi, R. J. Mumper, Engineering tumor-targeted gadolinium hexanedione nanoparticles for potential application in neutron capture therapy, *Bioconjug. Chem.* 2002, 13, 1328–1335.
- 123 Y. Zhang, N. Kohler, M. Zhang, Surface modification of superparamagnetite nanoparticles and their intracellular uptake, *Biomaterials* 2002, 23, 1553–1561.

- 124 K. Na, T. Bum Lee, K. H. Park, E. K. Shin, Y. B. Lee, H. K. Choi, Self-assembled nanoparticles of hydrophobically-modified polysaccharide bearing vitamin H as a targeted anticancer drug delivery system, *Eur. J. Pharm. Sci.* 2003, 18, 165–173.
- 125 Y. Rabin, Is intracellular hyperthermia superior to extracellular hyperthermia in the thermal sense? *Int. J. Hyperthermia* 2002, 18, 194–202.
- 126 A. M. Granov, O. V. Muratov, V. F. Frolov, Problems in the local hyperthermia of inductively heated embolized tissues, *Theoretical Foundations of Chem. Engin.* 2002, 36, 63–66.
- 127 W. J. Atkinson, I. A. Brezpvich, D. P. Chakraborty, Usable frequencies in hyperthermia with thermal seeds, *IEEE Trans. Biomed. Eng. BME* 1984, 31, 70–75.
- 128 E. Fattal, C. Vauthier, I. Aynie, Y. Nakada, G. Lambert, C. Malvy, P. Couvreur, Biodegradable polyalkylcyanoacrylate nanoparticles for the delivery of oligonucleotides, *J. Control Release* 1998, 53, 137–143.
- 129 I. Aynie, C. Vauthier, H. Chacun, E. Fattal, P. Couvreur, Spongelike alginate nanoparticles as a new potential system for the delivery of antisense oligonucleotides. *Antisense, Nucleic Acid Drug Dev.* 1999, 9301–9312.
- 130 G. Lambert, E. Fattal, H. Pinto-Alphandary, A. Gulik, P. Couvreur, Polyisobutylcyanoacrylate nanocapsules containing an aqueous core as a novel colloidal carrier for the delivery of oligonucleotides, *Pharm. Res.* 2000, 17, 707–714.
- 131 G. Liu, D. Li, M. K. Pasumarthy, T. H. Kowalczyk, C. R. Gedeon, S. L. Hyatt, J. M. Payne, T. J. Miller, P. Brunovskis, T. L. Fink, O. Muhammad, R. C. Moen, R. W. Hanson, M. J. Cooper, Nanoparticles of compacted DNA transfect postmitotic cells, *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 32578–32586.
- 132 D. M. Lynn, D. G. Anderson, D. Putnam, R. Langer, Accelerated discovery of synthetic transfection vectors: parallel synthesis and screening of a degradable polymer library, *J. Am. Chem. Soc.* 2001, 123, 8155–8156.
- 133 J. Panyam, W. Z. Zhou, S. Prabha, S. K. Sahoo, V. Labhasetwar, Rapid endolysosomal escape of poly(DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles: implications for drug and gene delivery, *FASEB J.* 2002, 16, 1217–1226.
- 134 C. Mah, I. Zolotukhin, T. J. Fraitas, J. Dobson, C. Batich, B. J. Byrne, Microsphere mediated delivery of recombinant AAV vectors in vitro and in vivo, *Mol. Ther.* 2000, 1S, 239.
- 135 C. Mah, T. J. Fraitas, I. Zolotukhin, S. Song, T. R. Flotte, J. Dobson, C. Batich, B. Byrne, Improved method of recombinant AAV2 delivery for systemic targeted gene therapy, *Mol. Ther.* 2002, 6, 106–112.
- 136 J. D. Hood, M. Bednarski, R. Frausto, S. Guccione, R. A. Reisfeld, R. Xiang, D. A. Cheresh, Tumor regression by targeted gene delivery to the neovasculature, *Science* 2002, 296, 2404–2407.
- 137 L. Xu, P. Frederik, K. Pirollo, W. H. Tang, A. Rait, L. M. Xiang, W. Huang, I. Cruz, Y. Yin, E. Chang, Self-assembly of a virusmimicking nanostructure

- system for efficient tumor targeted gene delivery, *Human Gene Ther.* 2002, 13, 469–481.
- 138 M. Hiraoka, S. Jo, K. Akuta, Y. Nishimura, M. Takahashi, M. Abe, Radiofrequency capacitive hyperthermia for deep-seated tumors. II. Effects of thermoradiotherapy, *Cancer* 1987, 60, 128–135.
- 139 R. Cavaliere, E. C. Ciocatto, B. C. Giovanella, C. Heidelberger, R. O. Johnson, M. Margottini, B. Mondovi, G. Moricca, A. Rossi-Fanelli, Selective heat sensitivity of cancer cells. Biochemical and clinical studies, *Cancer* 1967, 20, 1351–1381.
- 140 P. Wust, B. Hildebrandt, G. Sreenivasa, B. Rau, J. Gellermann, H. Riess, R. Felix, P. M. Schlag, Hyperthermia in combined treatment of cancer, *Lancet Oncol.* 2002, 3, 487–497.
- 141 A. Jordan, R. Scholz, P. Wust, H. Faehling, R. Felix, Magnetic fluid hyperthermia (MFH): cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles, *J. Magn. Magn. Mater.* 1999, 201, 413–419.
- 142 I. Hilger, R. Hergt, W. A. Kaiser, Effects of magnetic thermoablation in muscle tissue using iron oxide particles: an in vitro study, *Invest. Radiol.* 2000, 35, 170–179.
- 143 M. Shinkai, M. Matsui, T. Kobayashi, Heat properties of magnetoliposomes for local hyperthermia, *Jpn. J. Hypertherm. Oncol.* 1994, 10, 168–177.
- 144 R. Hiergeist, W. Andrae, N. Buske, R. Hergt, I. Hilger, U. Richter, W. Kaiser, Application of magnetite ferrofluids for hyperthermia, *J. Magn. Magn. Mater.* 1999, 201, 420–422.
- 145 I. Hilger, K. Fruhauf, W. Andra, R. Hiergeist, R. Hergt, W. A. Kaiser, Heating potential of iron oxides for therapeutic purposes in interventional radiology, *Acad. Radiol.* 2002, 9, 198–202.
- 146 R. E. Rosenzweig, Heating magnetic fluid with alternating magnetic field, *J. Magn. Magn. Mater.* 2002, 252, 370–374.
- 147 A. V. Brusentsov, V. V. Gogosov, T. N. Buntsova, A. V. Sergeev, N. Y. Jurchenko, A. Kuznetsow, O. Kuznetsow, L. I. Shumakov, Evaluation of ferromagnetic fluids and suspensions for the site-specific radiofrequency-induced hyperthermia of MX11 sarcoma cells in vitro, *J. Magn. Magn. Mater.* 2001, 225, 113–119.
- 148 A. Jordan, R. Scholz, P. Wust, H. Fahling, J. Krause, W. Wlodarczyk, B. Sander, T. Vogl, R. Felix, Effects of magnetic fluid hyperthermia (MFH) on C3H mammary carcinoma in vivo, *Int. J. Hypertherm.* 1997, 13, 587–605.
- 149 R. T. Gordon, J. R. Hines, D. Gordon, Intracellular hyperthermia. A biophysical approach to cancer treatment via intracellular temperature and biophysical alterations, *Med. Hypoth.* 1979, 5, 83–102.
- 150 Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones, J. Dobson, Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine, *J. Phys. D Appl. Phys.* 2003, 36, R167–R181.
- 151 M. Shinkai, B. Le, H. Honda, K. Yoshikawa, K. Shimizu, S. Saga, T. Wakabayashi, J. Yoshida, T. Kobayashi, Targeting hyperthermia for renal cell

- carcinoma using human MN antigen-specific magnetoliposomes, *Jpn. J. Cancer Res.* 2001, 92, 1138–1145.
- 152 A. Ito, M. Shinkai, H. Honda, T. Kobayashi, Heat-inducible TNF-alpha gene therapy combined with hyperthermia using magnetic nanoparticles as a novel tumor-targeted therapy, *Cancer Gene Ther.* 2001, 8, 649–654.
- 153 E. J. Bergey, L. Levy, X. Wang, L. J. Krebs, M. Lal, K. S. Kim, S. Pakatchi, C. Liebow, P. N. Prasad, DC magnetic field induced magnetocytolysis of cancer cells targeted by LH-RH magnetic nanoparticles in vitro, *Biomed. Microdevices.* 2002, 4, 293–299.
- 154 L. R. Hirsch, R. J. Stafford, J. A. Bankson, S. R. Sershen, B. Rivera, R. E. Price, J. D. Hazle, N. J. Halas, J. L. West, Nanoshellmediated near-infrared thermal therapy of tumors under magnetic resonance guidance, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003, 100, 13549–13554.
- 155 C. Loo, A. Lin, L. Hirsch, M. H. Lee, J. Barton, N. Halas, J. West, R. Drezek, Nanoshellenabled photonics-based imaging and therapy of cancer, *Technol. Cancer Res. Treat.* 2004, 3, 33–40.
- 156 A. M. Granov, O. V. Muratov, V. F. Frolov, Problems in the local hyperthermia of inductively heated embolized tissues, *Theoretical Foundations of Chem. Engin.* 2002, 36, 63–66.
- 157 W. J. Atkinson, I. A. Brezpvich, D. P. Chakraborty, Usable frequencies in hyperthermia with thermal seeds, *IEEE Trans. Biomed. Eng. BME* 1984, 31, 70–75.
- 158 J. T. Santini Jr., A. C. Richards, R. Scheidt, M. J. Cima, R. Langer, Microchips as controlled drug-delivery devices, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2000, 39, 2396–2407.
- 159 J. Kost, R. Langer, Responsive polymeric delivery systems, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 1991, 6, 19–50.
- 160 J. T. Santini Jr., M. J. Cima, R. Langer, A controlled- release microchip, *Nature* 1999, 397, 335–338.
- 161 R. Scheidt, A. Richards, A. Rosenberg, A. Johnson, G. Voskerician, J. Anderson, R. Langer, M. J. Cima, MEMS-based microdelivery of drugs. Proceedings, 28th international symposium on controlled release of bioactive materials and 4th consumer and diversified products conference, *San Diego*, 2002, 1, 59–60.
- 162 E. E. Bakken, K. Heruth, Temporal control of drugs: an engineering perspective, *Ann. NY Acad. Sci.* 1991, 618, 422–427.
- 163 R. Langer, Drug delivery: drugs on target, *Science* 2001, 293, 58–59.
- 164 E. R. Edelman, J. Kost, H. Bobeck, R. Langer, Regulation of drug release from polymer matrixes by oscillating magnetic fields, *J. Bio. Med. Res.* 1985, 19, 67–83.
- 165 M. Shalaby, W. Shalaby, Implantable insulin controlled release systems for treating diabetes mellitus, *Absorb. Biodegrad. Polymers* 2004, 205–226.
- 166 G. M. Steil, A. E. Panteleon, K. Rebrin, Closed-loop insulin delivery – the path to physiological glucose control, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2004, 56, 125–144.

- 167 C. Zion Todd, Y. Ying Jackie, Glucose-responsive nanoparticles for controlled insulin delivery. *AICHE Annual Meeting, Conference Proceedings, San Francisco*, 2003, pp. 112–119.
- 168 A. J. Coury, C. M. Philbrook, K. C. Skinner, Controlled release of antiarrhythmic agents from polymer hydrogels, *PCT Int. Appl.* 2004, 56 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2004002449 A1 20040108 CAN 140:82260 AN 2004:20465 CAPLUS.
- 169 K. K. Midha, M. Hirsh, W. Lo, Oral pharmaceutical dosage forms for pulsatile delivery of an antiarrhythmic agent, *US Pat. Appl. Publ.* 2002, 19 pp. Cont.-in-part of US Ser. No. 639,584.
- 170 A. Juppo, Novel modified-release formulation containing amphiphilic lipids as a hydrophobic matrix former. *PCT Int. Appl.* 2002. 31 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2002064121 A1 20020822 CAN 137:190729 AN 2002:637506 CAPLUS.
- 171 V. C. Stevens, J. E. Powell, A. E. Lee, P. T. P. Kaumaya, D. H. Lewis, M. Rickey, T. J. Atkins, Development of a delivery system for a birth control vaccine using biodegradable microspheres, *Proc. 19th Int. Symp. Controlled Release Bioact. Mater.* 1992, 112–113.
- 172 E. D. B. Johansson, R. Sitruk-Ware, New delivery systems in contraception: vaginal rings, *Am. J. Obstet Gynecol.* 2004, 190, S54–S59.
- 173 D. Ausiello, J. T. Santini Jr., S. J. Herman, J. H. Prescott, Method and device for the controlled delivery of parathyroid hormone, *PCT Int. Appl.* 2004, 42 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2004022033 A1 20040318 CAN 140:259115 AN 2004:220183 CAPLUS.
- 174 T. Chien, Polymer-based transdermal hormone delivery systems, *US Pat. Appl. Publ.* 2004, 18 pp., Cont.-in-part of US Ser. No. 130,913. CODEN: USXXCO US 2004053901 A1 20040318 CAN 140:259104 AN 2004:220034 CAPLUS.
- 175 D. L. Wise, D. J. Trantolo, D. D. Hile, S. A. Doherty, Bioadhesive mucosal delivery system for vaccines to induce mucosal immunity to pathogenic microorganisms, *PCT Int. Appl.* 2004, 40 pp. CODEN: PIXXD2 WO 2004004654 A2 20040115 CAN 140:117356 AN 2004:41223 CAPLUS.
- 176 S. S. Feng, L. Mu, K. Y. Win, G. Huang, Nanoparticles of biodegradable polymers for clinical administration of paclitaxel, *Curr. Med. Chem.* 2004, 11, 413–424.
- 177 C.-K. Kim, S.-J. Lim, Recent progress in drug delivery systems for anticancer agents, *Arch. Pharm. Res.* 2002, 25, 229–239.
- 178 A. Mauro, A. Miglietta, R. Cavalli, C. Bocca, M. Guido, A. Di Sapio, L. Pradotto, D. Schiffer, M. R. Gasco, Enhanced cytotoxicity of paclitaxel incorporated in solid lipid nanoparticles against human glioma cells, *Proc. 27th Int. Symp. Controlled Release of Bioactive Mater.* 2000, 377–378.
- 179 R. H. Muller, K. Mader, and S. Gohla, Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000, 50, 161–177.

- 180 I. Oh, K. Lee, H.-Y. Kwon, Y.-B. Lee, S.-C. Shin, C.-S. Cho, C.-K. Kim, Release of adriamycin from poly(*c*-benzyl-L-glutamate)/poly(ethylene oxide) nanoparticles, *Int. J. Pharm.* 1999, 181 (1), 107–115.
- 181 J. S. Chawla, M. M. Amiji, Affinity scale between a carrier and a drug in DPI studied by atomic force microscopy, *Int. J. Pharm.* 2002, 249, 127–138.
- 182 D. Putnam, J. Kopecek, Polymer conjugates with anticancer activity, *J. Adv. Poly. Sci.* 1995, 122, (Biopolymers II): 55–123.
- 183 C. Verdun, P. Couvreur, H. Vranckx, V. Lenaerts, M. Roland, Development of a nanoparticle controlled release formulation for human use, *J. Control Release* 1986, 3, 205–210.
- 184 K. Na, K.-H. Park, S. W. Kim, Y. H. Bae, Selfassembled hydrogel nanoparticles from curdlan derivatives: characterization, anti-cancer drug release and interaction with a hepatoma cell line (HepG2), *J. Control Release* 2000, 69, 225–236.
- 185 S. Choi, W.-S. Kim, J.-H. Jim, Surface modification of functional nanoparticles for controlled drug delivery, *J. Disp. Sci. Techn.* 2003, 24, 475–487.
- 186 H. S. Yoo, T. G. Park, In vitro and in vivo antitumor activities of nanoparticles based on doxorubicin–PLGA conjugate. Book of abstracts, *219th ACS National Meeting, San Francisco*, March 26–30, Poly–514, 2000.
- 187 T. Park, “Bioconjugation of Biodegradable Poly(lactic/glycolic acid) to Protein, Peptide, and Anti-Cancer Drug: An Alternative Pathway for Achieving Controlled Release from Micro- and Nanoparticles,” in the book “Polymeric drugs and drug delivery systems” Edited by R. M. Ottenbrite and S. W. Kin, 2001, 101–114.
- 188 H. S. Yoo, J. E. Oh, K. H. Lee, and T. G. Park, Biodegradable nanoparticles containing doxorubicin–PLGA conjugate for sustained release, *Pharm. Res.* 1999, 16, 1114–1118.
- 189 K. J. Kim and Y. Byun, Controlled release of all-trans-retinoic acid from PEGylated gelatin nanoparticles by enzymatic degradation, *Biotechn. Biopro. Eng.* 1999, 4 (3), 215–218.
- 190 N. Kun, B. You Han, Self-assembled hydrogel nanoparticles responsive to tumor extracellular pH from pullulan derivative/sulfonamide conjugate: characterization, aggregation, and adriamycin release in vitro, *Pharma Res.* 2002, 19, 681–688.
- 191 F. Yoshinobu, I. Hideki, T. Hiroyuki, S. Futoshi, M. Masahito, W. Testuya, *2nd Proc Int Conf Process Mater Properties, San Francisco*, 2000.
- 192 S. Sershen, S. Westcott, N. Halas, J. West, Temperature-sensitive polymer-nanoshell composites for photothermally modulated drug delivery, *27th Proc. Int. Symp. Control Release Bio. Mater.* 2000, pp. 201–202.
- 193 A. K. Larsen, A. E. Escargueil, A. Skladanowski, Resistance mechanisms associated with altered intracellular distribution of anticancer agents, *Pharmacol. Ther.* 2000, 88, 217–229.

- 194 S. Bennis, C. Chapey, P. Couvreur, J. Robert, Enhanced cytotoxicity of doxorubicin encapsulated in polyisohexylcyanoacrylate nanospheres against multidrug-resistant tumour cells in culture, *Eur. J. Cancer A* 1994, 30, 89–93.
- 195 A. Colin de Verdiere, C. Dubernet, F. Nemati, M. F. Poupon, F. Puisieux, P. Couvreur, Uptake of doxorubicin from loaded nanoparticles in multidrug-resistant leukemic murine cells, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 1994, 33, 504–508.
- 196 A. Astier, B. Doat, M. J. Ferrer, G. Benoit, J. Fleury, A. Rolland, R. Leverage, Enhancement of adriamycin antitumor activity by its binding with an intracellular sustained-release form, polymethacrylate nanospheres, in U-937 cells, *Cancer Res.* 1988, 48, 1835–1841.
- 197 A. C. de Verdiere, C. Dubernet, F. Nemati, E. Soma, M. Appel, J. Ferte, S. Bernard, F. Puisieux, P. Couvreur, Reversion of multidrug resistance with polyalkylcyanoacrylate nanoparticles: towards a mechanism of action, *Br. J. Cancer* 1997, 76, 198–205.
- 198 D. Goren, A. T. Horowitz, D. Tzemach, M. Tarshish, S. Zalipsky, A. Gabizon, Nuclear delivery of doxorubicin via folate-targeted liposomes with bypass of multidrug-resistance efflux pump, *Clin. Cancer Res.* 2000, 6, 1949–1957.
- 199 C. Cuvrie, Doxorubicin loaded nanospheres bypass tumor cell multi-drug resistance, *Biochem. Pharm.* 1992, 44, 509–517.