ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტი

სამაგისტრო პროგრამა: გამოყენებითი ბიომეცნიერებები

ნინო ლელაძე

მაგნიტური ნანონაწილაკების ეფექტურობის შეფასება ანტისიმსივნურ თერაპიაში

ნაშრომი შესრულებულია

გამოყენებითი ბიომეცნიერებებისა და ბიოტექნოლოგიების

მაგისტრის აკადემიური ხარისხის მოსაპოვებლად

ხელმძღვანელები:

ბ.მ.დ. ასოც. პროფესორი ნუნუ მიცკევიჩი

იმუნოლოგია-მიკრობიოლოგიის კათედრა, თსუ.

ფ.მ.დ შალვა კეკუტია

ვ.ჭავჭანიძის სახ. კიბერნეტიკის ინსტიტუტი.

თბილისი 2017

შემოკლებულ ტერმინთა განმარტება

მნნწ- მაგნიტური ნანონაწილაკი

რკონნწ-რკინის ოქსიდის მაგნიტური ნანონაწილაკები

მრტ- მაგნიტურ- რეზონანსული ტომოგრაფია

მნს-მაგნიტური ნანოსითხე

PEG- პოლიეთილენგლიკოლი

RM-1- თაგვის პროსტატის სიმსივნის უჯრედული ხაზი

PC3- ადამიანის პროსტატის სიმსივნის უჯრედული ხაზი

CRPC- კასტრაცია-რეზისტენტული პროსტატის სიმსივნმე

MITX-მიტოქსანტრონი

PSA-პროსტატ სპეციფიკური ანტიგენი

MTT-ის ტესტი - 3-[4,5-დიმეთილტეტრაზოლიუმის-2-yl]-

2,5-დიფენილტეტრაზოლიუმ ბრომიდის ტესტი

PEO-პოლიეთილენის ოქსიდი

ანოტაცია

შესავალი: სუპერმაგნიტური თვისებების მქონე ნანომატარებლებმა ბოლო წლებში პოტენციური გამოყენების დიდი იმედები ჩასახა მაგნიტური ბიოგანცალკევების, წამლისა და გენის დამისამართებული მიწოდების, უჯრედის მონიშვნის, მყარი სიმსივნის ჰიპერთერმიული მკურნალობისა და მაგნიტურ-რეზონანსული ტომოგრაფიის კონტრასტული აგენტების მიმართულებით. პროსტატის კიბოს თერაპიაში დანერგილი აღნიშნული თანამედროვე მეთოდები ხასიათდებიან არასასურველი გვერდითი ეფექტებით. არსებული ონკოთერაპიული მეთოდების ალტერნატივას წარმოადგენს მაგნიტური ნანონაწილაკების კომბინაცია თერაპიულ საშუალებებთან.

კვლევის მთავარი მიზანი იყო პროსტატის კიბოს სამკურნალოდ მაგნიტური ნანონაწილაკების (მნნწ), Fe304-ის თერაპიული ეფექტის კვლევა და მისი გავლენის შეფასება ქიმიოთერაპიული საშუალების (მიტოქსანტრონის) თერაპიულ ეფექტზე. სხვადასხვა კლინიკური კვლევებით ნაჩვენებია კომბინირებული თერაპიის უპირატესობა მონოთერაპიასთან შედარებით, ამიტომ ამ მკურნალობის ახალი რეჟიმის გამოყენებით, შესაძლოა მოხერხდეს თერაპიის ეფექტურობის მაქსიმიზაცია და გვერდითი ეფექტების მინიმუმამდის შემცირება.

კვლევის მასალა და მეთოდები: *in vivo* კვლევის ფარგლებში, პროსტატის სიმსივნური ხაზის RM-1 უჯრედების თეთრ თაგვებში ინექციით მივიღეთ თაგვის სიმსივნური მოდელი. მნნწ-ებისა (შიშველი მნნწ, PEG-ით შემოგარსული მნნწ) და MITX-ის შეყვანის შემდეგ ვაწარმოებდით სიმსივნის ზრდის მონიტორინგს. *In vitro* კვლევისათვის გამოვიყენეთ RM-1 და PC-3 უჯრედები. ორივე უჯრედულ კულტურაზე გამოვცადეთ მნნწ-ები (შიშველი მნნწ, PEG-ით შემოგარსული მნნწ) და MITX, როგორც ცალ-ცალკე, ისე კომბინაციაში. შევაფასეთ უჯრედების სისოცხლისუნარიანობა MTT მეთოდით. მათი აპოპტოზის რაოდენობის შეფასების გზით ვიკვლევდით პრეპარატების სხვადასხვა კომბინაციის ციტოტოქსიკურ ეფექტს.

შედეგები და დასკვნა: თაგვის პროსტატის სიმსივნის *in vivo* მოდელში დადასტურდა მაგნიტური ნანონაწილაკების დადებითი თერაპიული ეფექტი, როგორც მონო, ასევე კომბინირებული თერაპიისას (ქიმიოთერაპიულ პრეპარატებთან კომბინაციაში ზრდის ამ უკანასკნელთა ეფექტურობას). მანიტური ნანონაწილაკები ზრდის ქიმიოთერაპიული

პრეპარატის ეფექტურობას კომბინაციაში, რაც განსაკუთრებით გამოვლინდა PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ისა და MITX-ის კომბინაციისას თაგვის სიმსივნის ხაზის RM-1 უჯრედებზე .

Annotation

Intruduction: Magnetic Nanoparticles (MNPs) are well-known as drug delivery systems as well as magnetic resonance imaging (MRI) contrast agents. MNPs as drug carriers have attracted significant attention because of the possibility to syringe themselves to solid tumors and keep them in place by an external electromagnetic field which subsequently provides the opportunity to release the drug in a controlled way at the intended site.

Prostate cancer is the most common cancer affecting men, and the second leading cause of cancer death following to skin carcinoma. The incidence and mortality rates of prostate cancer vary greatly among different geographic areas and ethnic groups. Several management options are available when prostate cancer is diagnosed at an early stage, including watchful waiting, surgery, cryosurgery, radiation therapy, hormonal therapy and immunotherapy. However all of them have their own adverse effects.

Research Materials and Methods: We investigated the effects of MNPs-Fe3O4 (Nude and PEGilated) or Mito alone, and in combination (MNPs-Fe3O4+Mito) with prostate cancer human (PC-3) and mouse cells (RM-1) cells growth in vitro and in the mouse prostate cancer model in vivo.

In vivo study was performed using white mice, which were injected with RM-1 cells subcutaneously and were treated with differante combinations of MITX and MNPs, while tumor size wase monitored. For in vitro study RM-1 and PC-3 cells were treated with differante combinations of MITX and MNPs and MTT cell viability test was performed to evaluate their cytotoxic effects.

As it was expected the drug from nanoparticles exhibited better sustaining efficacy and produced less hepatotoxicity as compared to drug in solution form. We observed effectiveness of the MNPs- Fe3O4–low dose Mitoxantrone combination therapy in treating prostate cancer with limited adverse effects.

Results and Conclusion: The positive therapeutic effect of magnetic nanoparticles is confirmed in both mono and combined therapy (combined with chemotherapy preparations for the effectiveness of the latter) in the mouse prostate cancer model in vivo research The MNPs increase the effectiveness of chemotherapy preparation, which is especially evident in the combination of PEG-coated MNPs and MITX on the cells of the mouse tumor RM1 line.

შინაარსი

1.	შესავალი	8
1.1.	თემის აქტუალობა	8
1.2.	კვლევის მიზანი და ამოცანები	11
1.3.	კვლევის შედეგების სამეცნიერო ღირებულება და პრაქტიკული გამოყენება	12
2.	ლიტერატურის მიმოხილვა	13
2.1.	სიმსივნის ბიოლოგია	13
2.2.	პროსტატის სიმსივნე	15
2.3.	სიმსივნის თერაპია	17
2.4.	თანამედროვე ბიოტექნოლოგიური მიდგომები	19
2.5.	ნანოტექნოლოგია	20
2.6.	მაგნიტური ნანონაწილაკები	23
2.7.	აპოპტოზი	26
3.	კვლევის მასალა და ობიექტი	27
3.1.	შემოუგარსავი რკინის ოქსიდის მაგნიტური ნანონაწილაკები	27
3.2.	PEG-ით შემოგარსული რკინის ოქსიდის მაგნიტური ნანონაწილაკები	29
3.3.	RM-1 უჯრედები-თაგვის პროსტატის სიმსივნის უჯრედები	31
3.4.	PC-3 უჯრედები-ადამიანის პროსტატის სიმსივნის უჯრედები	31
3.5.	მიტოქსანტრონი	32
3.6.	ლაბორატორიული ცხოველები	33
3.7.	ცხოველური მოდელები სიმსივნეებში	34
4.	კვლევის მეთოდები	35
4.1.	თაგვის პროსტატის სიმსივნის მოდელის მიღება და მნნწ-ების *in vivo* კვლევა	35
4.2.	RM-1 და PC-3 უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შეფასება MTT მეთოდით - მნნწ-ების in vitro კვლევა	36
5.	ექსპერიმეტული კვლევის შედეგები და განხილვა	38
5.1.	მნნწ-ებისმოქმედების შედეგები თაგვის პროსტატის სიმსივნის	38

	in vivo მოდელში	
5.2.	RM-1 უჯრედებზე მნნწ-ების მოქმედების *in vitro* შედეგები	40
5.3.	PC-3 უჯრედებზე მნნწ-ების მოქმედების *in vitro*შედეგები	42
6.	დასკვნები	46
7.	პრაქტიკული რეკომენდაცია	46
8.	გამოყენებული ლიტერატურა	47

1. შესავალი

1.1. თემის აქტუალობა

ბოლო წლებში სუპერმაგნიტური თვისებების მქონე ნანომატარებლებმა პოტენციური გამოყენების დიდი იმედები ჩასახა მაგნიტური ბიოგანცალკევების, წამლისა და გენის დამისამართებული მიწოდების, უჯრედის მონიშვნის, მყარი სიმსივნის ჰიპერთერმიული მკურნალობისა და მაგნიტურ- რეზონანსული ტომოგრაფიის (მრტ) კონტრასტული აგენტების მიმართულებით [1]. წამლისა და გენის მაგნიტური მიწოდების ნანოსისტემები, როგორც ჩანს, პერსპექტიული ინსტრუმენტებია კიბოს ქიმიოთერაპიისთვის და გენური თერაპიისთვის სიმსივნის ადგილას მათი განსაკუთრებული ქცევის გამო, რომლის წყალობით მცირდება სისტემური განაწილება და ეცემა წამლის საჭირო დოზის მნიშვნელობა. მეორეს მხრივ, მნნწ-ები შეიძლება წარმოადგენდეს მრტ-ის კონტრასტულ აგენტებს, რაც ხდის მათ მძლავრ ინსტრუმენტად ერთდროულად მოახდინოს დაავადებული ქსოვილების დიაგნოსტიკა და თერაპია [2].

პროსტატის კიბო მამაკაცებში გავრცელებულ სიმსივნეებს შორის სიხშირით მეორე ადგილზეა კანის კარცინომის შემდეგ. სიკვდილიანობის მაჩვენებლით სხვა ავთვისებიან სიმსსივნეებს შორის მეორე ყველაზე ხშირი გამომწვევია ფილტვის კიბოს შემდეგ [WHO: Cancer Statistics 2015]. სტატისტიკა განსხვავდება სხვადასხვა გეოგრაფიულ არეალებსა და ეთნიკურ ჯგუფებს შორის. მიუხედავად იმისა, რომ ადრეული დიაგნოსტიკა ბოლო წლების მანძილზე გაუმჯობესდა და კომპლექსური თერაპიის ახალი მეთოდები დაინერგა, არსებული სტატისტიკა უცვლელი რჩება [3].

ადრეული დიაგნოზირების შემდეგ, არსებობს ამ დაავადების მართვის რამდენიმე სტრატეგია, რომლებიც გულისხმობს: დაცდასა და დაკვირვებას, ქირურგიულ ჩარევას, კრიოქირურგიას, რადიაციულ თერაპიას, ქიმიოთერაპიას, ჰორმონულ და იმუნოთერაპიას. პროსტატის კიბოს თერაპიაში დანერგილი აღნიშნული თანამედროვე მეთოდები ხასიათდებიან

არასასურველი გვერდითი ეფექტებით. უნდა აღინიშნოს, რომ ქიმიოთერაპია ხასიათდება არასელექტიურობითა და არასასურველი გვერდითი ეფექტებით, როგორიცაა ჰეპატოტოქსიკურობა. ხოლო რადიოთერაპიის გამოყენება შეზღუდულია სიმსივნის ლოკალიზაციით და მეტასტაზების არსებობის შემთხვევაში არაეფექტურია. რაც შეეხება ჰორმონოთერაპიას, იგი მხოლოდ ჰორმონდამოკიდებული პროსტატის კიბოს მკურნალობისას არის ეფექტური. მისი გამოყენებისას ყალიბდება კასტრაცია-რეზისტენტული პროსტატის სიმსივნე (CRPC) . ბოლო წლებში გამოიცადა რამდენიმე ანტისიმსივნური პრეპარატი პროსტატის სიმსივნის თერაპიაში *in vitro* და *in vivo* ცხოველურ ექსპერიმენტებში, თუმცა უმრავლესობას არ აქვს ან მხოლოდ სუსტი გავლენა აქვს CRPC ან მეტასტაზირებული პროსტატის სიმსივნის მქონე პაციენტების გადარჩენის სტატისტიკაზე [4].

არსებული ონკოთერაპიული მეთოდების ალტერნეტივას წარმოადგენს მნნწ-ების (Fe304) კომბინაცია ქიმითერაპიულ საშუალებებთან [5]. პროექტი მოიცავდა პროსტატის კიბოს სამკურნალოდ გამოყენებულ ქიმიოთერაპიულ საშუალებასთან MITX-თან ერთად მნნწ-ების ეფექტურობის შეფასებას.

კლინიკური კვლევებით ნაჩვენებია კომბინირებული თერაპიის უპირატესობა მონოთერაპიასთან შედარებით, ამიტომ ამ მკურნალობის ახალი რეჟიმის გამოყენებით, შესაძლოა მოხერხდეს თერაპიის ეფექტურობის მაქსიმიზაცია და გვერდითი ეფექტების მინიმუმამდის შემცირება [6].

MITX წარმოადგენს სიმსივნის საწინააღმდეგო სინთეზურ ანთრაქინონს ინტრავენური გამოყენებისათვის. მისი მოლეკულური ფორმულა არის $C_{22}H_{28}N_4O_6$-2HCL. მიუხედავად იმისა, რომ მისი მოქმედების მექანიზმი არ არის სრულად გარკვეული, MITX ხასიათდება დნმ-რეაქტიული მოქმედებით. იწვევს ადამიანის როგორც პროლიფერაციული, ასევე არაპროლიფერაციული უჯრედების სიკვდილს, ასევე თრგუნავს უჯრედული ციკლის ფაზებს. შეყვანის სხვა გზების უსაფრთხოება, გარდა ინტრავენურისა, არ არის დადგენილი [7].

MITX ერთ-ერთი ყველაზე მნიშვნელოვანი ანტისიმსივნური პრეპარატია. თუმცა ძლიერი გვერდითი ეფექტების გამო მისი კლინიკაში ფართოდ გამოყენება შეზღუდულია. მაგნიტურ ნანონაწილაკებს (Fe3O4) შესწევთ პრეპარატის დამისამართებულად მიტანის უნარი და ამით მისი ეფექტურობის გაზრდა [8].

მნნწ-ების სინთეზისას დიდი ყურადღება ნაწილაკის ზომას ექცევა. მიღებულ მასალაში ნაწილაკებს ჰომოლოგიური განზომილებები და საშუალო ზომიდან მხოლოდ მცირედი გადახრა უნდა ჰქონდეთ. დღეს არსებული მეთოდები მეტნაკლებად მისაღებ ხარისხს გვაძლევს. მნნწ-ებს აქვთ მაღალი მიდრეკილება აგლომერაციისაკენ მათი დიდი ზედაპირული ენერგიის წყალობით, რაც იწვევს ოპსონიზაციას და მაკროფაგებისა და რეტიკულოენდოთელიარული სისტემის მიერ მათ ამოცნობას, რაც მნიშვნელოვნად ზღუდავს მათი გამოყენების მიზნებს. იმისათვის, რომ გვერდი აგვერიდებინა ასეთი ზემოქმედებისათვის, მნნწ-ები შევფუთეთ ჰიდროფილური ბიოთავსებადი მაკრომოლეკულებით, კერძოდ PEG-ით, რომელმაც მიანიჭა კოლოიდური სტაბილურობა ბიოლოგიურ სითხეში და დააქვეითა იმუნური სისტემის მიერ მათი ამოძირკვა [9].

წინა წლებში კომბინირებული თერაპიული საშუალებებით ჩატარებულმა კვლევებმა აჩვენა გარკვეული დადებითი შედეგები და განაპირობა შემდგომი კვლევების გაგრძელება მათი, პროსტატის კიბოს თერაპიული მეთოდების სამედიცინო არსენალში ჩართვის მიზნით [10].

ჩვენი კვლევა ფოკუსირებული იყო მნნწ-ებისა და MITX-ის კომბინირებული გამოყენების შესაძლო სარგებლობაზე პროსტატის კიბოს მკურნალობაში. ჩვენ შევისწავლეთ მნნწ-ებისა და MITX-ის ეფექტები ცალ-ცალკე და კომბინაციაში, როგორც *in vivo* (RM-1), ასევე *in vitro* (RM-1, PC-3) მოდელებში.

1.2. კვლევის მიზანი და ამოცანები

კვლევის მიზანი იყო პროსტატის კიბოს სამკურნალოდ მაგნიტური ნანონაწილაკების (მნნწ), Fe_3O_4-ის თერაპიული ეფექტის კვლევა და მისი გავლენის შეფასება ქიმიოთერაპიული საშუალების (მიტოქსანტრონის) თერაპიულ ეფექტზე, როგორც *in vitro, ისე in vivo.*

დასახული მიზნების მისაღწევად შევასრულეთ შემდეგი ამოცანები:

- ამოცანა 1. შიშველი მნნწ-ების ეფექტის შეფასება პროსტატის სიმსივნურ უჯრედებზე (PC-3, RM-1) და *in vivo* თაგვის მოდელზე.
- ამოცანა 2. PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ების ეფექტის შეფასება პროსტატის სიმსივნურ უჯრედებზე (PC-3, RM-1) და *in vivo* თაგვის მოდელზე.
- ამოცანა 3. შიშველი მნნწ-ებისა და MITX-ის კომბინირებული ეფექტის შეფასება პროსტატის სიმსივნურ უჯრედებზე (PC-3, RM-1) და *in vivo* თაგვის მოდელზე.
- ამოცანა 4. PEG -ით შემოგარსული მნნწ-ებისა და MITX-ის კომბინირებული ეფექტის შეფასება პროსტატის სიმსივნურ უჯრედებზე (PC-3, RM-1) და *in vivo* თაგვის მოდელზე.
- ამოცანა 5. MITX-ის ეფექტის შეფასება პროსტატის სიმსივნურ უჯრედებზე (PC-3, RM-1) და *in vivo* თაგვის მოდელზე.

1.3. კვლევის შედეგების სამეცნიერო ღირებულება და პრაქტიკული გამოყენება

აღნიშნული კვლევა მიმართულია პროსტატის კიბოს მკურნალობის ახალი მიდგომის შემუშავებისაკენ. იგი მოიცავს, არა მხოლოდ მნნწ-ების ეფექტის შეფასებას არამედ მისი კომბინაციის შეფასებას MITX-თან. კვლევის მიზანი იყო განსაზღვრულიყო თუ რა ცვლილებები მიიღება ამ ნივთიერებების ზემოქმედების შედეგად სიმსივნურ უჯრედებში. შეფასდა მათი გავლენა სიმსივნური უჯრედების აპოპტოზის ხარისხზე.

შედეგებმა აჩვენა, რომ თაგვის პროსტატის სიმსივნის *in vivo* მოდელში დადასტურდა მაგნიტური ნანონაწილაკების დადებითი თერაპიული ეფექტი, როგორც მონო, ასევე კომბინირებული თერაპიისას (ქიმიოთერაპიულ პრეპარატებთან კომბინაციაში ზრდის ამ უკანასკნელთა ეფექტურობას).

თაგვის პროსტატის სიმსივნის RM-1 უჯრედული კულტურის კვლევისას შიშველი და PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ების თერაპიული ეფექტის შეფასებით გამოვლინდა PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ების მკვეთრად გამოხატული ეფექტურობა შიშველ ნაწილაკებთან შედარებით როგორც მონო, ასევე მიტოქსანტრონთან კომბინაციისას.

ადამიანის პროსტატის სიმსივნის PC-3 უჯრედული კულტურის კვლევისას შიშველი და PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ების მონოთერაპიული ეფექტის შეფასებით გამოვლინდა PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ების მკვეთრად გამოხატული ეფექტურობა შიშველ მნნწ-ებთან შედარებით, ეს განსხვავება არ იყო ნანახი კომბინირებული თერაპიისას.

მანიტური ნანონაწილაკები ზრდის ქიმიოთერაპიული პრეპარატის ეფექტურობას კომბინაციაში, რაც განსაკუთრებით გამოვლინდა PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ისა და MITX-ის კომბინაციისას თაგვის სიმსივნის ხაზის უჯრედებზე .

პრაქტიკული რეკომენდაცია: ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები კიდევ ერთხელ ადასტურებს კომბინირებული თერაპიის (მნნწ+ქიმიოთერაპიული საშუალება)

უპირატესობას მონოთერაპიასთან (მხოლოდ ქიმიოთერაპია) შედარებით და რეკომენდაციის საფუძველს იძლევა მნნწ-ებით ონკოთერაპიის გასაუმჯობესებლად (ქიმიოთერაპიული საშუალების დოზის შემცირება, შესაბამისად გვერდითი ეფექტების შემცირება).

2. ლიტარატურის მიმოხილვა

2.1 სიმსივნის ბიოლოგია

სიმსივნე, ისევე როგორც ნორმალური ქსოვილი უჯრედებისაგან შედგება, მაგრამ ნორმალური უჯრედებისაგან განსხვავებით სიმსივნურ უჯრედებს დაქვეითებული ან სრულიად დაკარგული აქვთ მომწიფების, დიფერენციაციის უნარი და ახასიათებთ განუსაზღვრელი გამრავლება, რის შედეგადაც წარმოქმნილი სიმსივნური ქსოვილი აზიანებს და არღვევს ირგვლივმდებარე ნორმალურ ქსოვილებსა და ორგანოებს [11].

სიმსივნე ხანგრძლივი პერიოდის განმავლობაში განიცდის ზრდას, თუმცა ეს უკანასკნელი არ განსაზღვრავს მის კეთილთვისებიანობას ან ავთვისებიანობას. იმ შემთხვევაში თუ ქსოვილი არ გამოდის თავისი ტერიტორიის საზღვრებიდან და არ ჩაიზრდება მის ირგვლივ მყოფ ქსოვილებში, მაშინ აღნიშნული სიმსივნე კეთილთვისებიანია.ეს უკანასკნელნი, როგორც წესი იზრდებიან ნელა და არ იძლევიან მეტასტაზებს [12]. კეთილთვისებიანი სიმსივნეებიდან-ლიპოსომები (ცხიმოვანი დანაგროვები) საშიშია მხოლოდ იმ შემთხვევაში თუ ისინი აწვებიან სიცოცხლისათვის საჭირო ქსოვილებსა თუ ორგანოებს და არღვევენ მათ ფუნქციას. უმეტეს შემთხვევაში თავში განვითარებული სიმსივნეები წარმოადგენენ კეთილთვისებიანს, თუმცა იმის გამო, რომ განვითარებული

სიმსივნე ახდენს ზეწოლას ტვინის ამა თუ იმ ცენტრებზე, შედეგად შეიძლება განვითარდეს რთული გამწვავებები. ქირურგიული ჩარევის შედეგად (იმ შემთხვევაში თუ ადგილი აქვს ახალგაზრდა უჯრედების მოცილებასაც) კეთილთვისებიანი სიმსივნე წყვეტს თავის არსებობას. როგორც წესი აღნიშნული სიმსივნე აღარ ვითარდება, თუმცა შესაძლებელია მისი მეორადი განვითარებაც[12-13].

ავთვისებიანი სიმსივნეები იყოფა ორ ჯგუფად: ეპითელური ქსოვილის სიმსივნეები(კიბო) და შემაერთებელი ქსოვილის სიმსივნეები (სარკომები)[12].

ავთვისებიანი სიმსივნის ძირითადი ნიშანია ქსოვილის საზღვრებიდან გამოსვლა , ასევე ინვაზია ანუ სიმსივნის ჩაზრდა მიმდებარე ქსოვილში. რაც შეეხება ძირითადი კერიდან სიმსივნური უჯრედების მოწყვეტას და მის გავრცელებას მთელ ორგანიზმში (ჩვეულებრივ ლიმფურ კვანძებში, ღვიძლში, ფილტვებში), ეს უკანასკნელი ხორცილდება სისხლსა და ლიმფის საშუალებით. შედეგად სიმსივნური უჯრედები ჩერდება მოშორებულ ორგანოებში, სადაც ვითერდება სიმსივნური ზრდის მეორადი, შორეული კერა. აღნიშნულ შემთხვევაში ადგილი აქვს მეტასტაზირებას ანუ სიმსივნური პროცესების გავრცელებას. განსაკუთრებით საშიშად ითვლება მიკრომეტასტაზები, რომლის მოშორება ქირურგიული ჩარევით შეუძლებელი ხდება(მიკრომეტასტაზების მოცილება შესაძლებელია მხოლოდ სიმსივნე საწინააღმდეგო პრეპარატებით-ქიმიოთერაპია, რადიაციული თერაპია).

სიმსივნური წარმონაქმნები გვხვდება ადამიანის ყველა ორგანოსა და ქსოვილში, თვით სისხლსა და ლიმფაში, ტვინში, ნერვსა და გულის კუნთში [14].

1 გრ. სიმსივნე შეიცავს ერთ მილიარდ კიბოს უჯრედს. თითოეულ ამ უჯრედს კი შესწევს უნარი თავის მხრივ დაიყოს, შეაღწიოს ლიმფასა და სისხლში. კიბოს უჯრედები შეაღწევენ რა ლიმფაში, მისი საშუალებით ჩერდებიან უახლოეს ორგანოებსა და ქსოვილებში. სიმსივნური უჯრედი შეიძლება მოკვდეს ან პირიქით განვითარდეს. ამგვარად მიდის ბრძოლა სიმსივნესა და ორგანიზმს შორის. საკმარისია დაირღვეს ძალების თანაფარდობა იწყება სიმსივნური წარმონაქმნის განვითარება [15].

2.2. პროსტატის სიმსივნე

პროსტატის სიმსივნეები პოლიეტიოლოგიურ დაავადებათა ჯგუფს მიეკუთვნება, რომელთა პათოგენეზში წამყვანი როლი ენიჭება: გენეტიკურ [1], ინფექციურ, იმუნურ , ჰორმონალურ და ალიმენტურ ფაქტორებს, თუმცა საყურადღებოა გარემო ფაქტორების როლიც , რადგან სიმსივნური პროცესის რეალიზაციისათვის აუცილებელ პირობას ორგანიზმზე გარემოს არახელსაყრელი ფაქტორების მავნე ზემოქმედება წარმოადგენს. მხედველობაშია მისაღები აგრეთვე პაციენტთა ასაკი. დღეისათვის დადგენილია, რომ პროსტატის ადენოკარცინომით ძირითადად ხანშიშესული, ასაკოვანი მამაკაცები (65-75 წელი) ავადდებიან, თუმცა ბოლო პერიოდში სტატისტიკა მიუთითებს პროსტატის კიბოს შემთხვევათა ზრდას 40-50 წლის მამაკაცებში. გასათვალისწინებელია ისიც, რომ არ არის სრულყოფილი დაავადების ადრეული დიაგნოსტიკა. დღემდე არ არსებობს სრული, კომპლექსური სადიაგნოსტიკო ტესტები, რომლებიც საწყის ეტაპზევე გამოავლენდნენ პროსტატის სიმსივნეს. შედეგად ავადმყოფთა ~60-80%-ს უფიქსირდებათ პროსტატის პროგრესირებული და მეტასტაზური სიმსივნე დაავადების კლინიკური გამოვლენისას [16].

პროსტატის კიბო მამაკაცის წინამდებარე ჯირკვალში(პროსტატაში) სიმსივნური პროცესების განვითარებაა. იგი ზოგჯერ ირგვლივმდებარე ქსოვილებში, ლიმფურ კვანძებში და ძვლებშიც ვრცელდება. სიმსივნე უმეტეს შემთხვევაში ნელი ტემპით ვითარდება, თუმცა, ზოგჯერ სწრაფი და აგრესიული ზრდაც ახასიათებს. პროსტატის კიბომ შეიძლება გამოიწვიოს ტკივილი პროსტატის მიდამოში, შარდვის გაძნელება და ტკივილი, პრობლემები სექსუალურ ცხოვრებაში, მათ შორის ერექტიული დისფუნქცია. სხვა სიმპტომები აღმოცენდება სიმსივნის უფრო გვიანდელ სტადიებზე [16-17].

პროსტატის სიმსივნიე გავრცელების მიხედვით იყოფა სტადიებად პირველი და მეორე სტადიის დროს (T1 და T2)სიმსივნე ვრცელდება, მხოლოდ პროსტატაში. T3 და T4 – ის დროს სიმსივნე შეიძლება გავრცელდეს სხვა ქსოვილებში და ორგანოებში, პროსტატის გარდა [17].

ნიშნები და სიმპტომები: ძირითადად პროსტატის კიბოს სიმპტომები არ აქვს საწყის ეტაპზე, თუმცა შეიძლება იყოს გარკვეული სიმპტომები გამოხატული. ძირითადად, პროსტატ სპეციფიური ანტიგენის (PSA) რაოდენობის მომატება არის პირველი ნიშანი. ხშირად, კი პროსტატის კეთილთვისებიან ჰიპერპლაზიას და სიმსივნეს, ერთნაირი სიმპტომატიკა აქვთ. გახშირებული შარდვა(პოლიურია), ნოქტურია(ღამით ხშირი შარდვა), შარდვის დაწყების გაძნელება და ნაკადის უწყვეტობის შენარჩუნების გაძნელება. ჰემატურია(სისხლი შარდში) და დიზურია (ტკივილი მოშარდვის დროს) [18].

მიზეზები: პროსტატის კიბოს განვითარების მიზეზის ზუსტი დადგენა შეუძლებელია(ამ ეტაპზე), ყველაზე დიდ რისკ ფაქტორს მისი განვითარებისთვის წარმოადგენს ასაკი და ოჯახური ისტორია. ძალიან იშვიათია პროსტატის კიბოს განვითარების რისკი 45 – წლის ასაკის ქვემოთ. პროსტატის კიბოს დიაგნოსტირების საშუალო ასაკი 70 წელია. თუმცა მამაკაცების დიდი რაოდენობა ისე ატარებს სიცოცხლეს, რომ ვერასდროს გებულობენ, რომ მათ პროსტატის კიბო ჰქონდათ. ადამიანები, რომლებიც დაიღუპნენ პროსტატის კიბოთი 20-30% იყო 50 წლის ასაკის, 70-80 % კი 70 წლის ფარგლებში. თუ ადამიანს ჰყავს პირველი რიგის ნათესავი პროსტატის კიბოთი, მათთვის სიმსივნის განვითარების რისკი ორმაგდება. 2005 წლისთვის 230 000 პროსტატის კიობოს შემთხვევიდან 30 000 დასრულდა სიკვდილით. ანუ 13 % სიკვდილიანობით სრულდება. პროსტატის კიბო, უფრო ხშირია შავკანიანებში, ვიდრე თეთრკანიანებში. BRCA1 , BRCA2 გენების მუტაცია არის შემჩნეული პროსტატის კიბოს განვითარების დროს. ამ გენების მუტაცია იწვევს ქალებში მკერდის კიბოს და საკვერცხეების სიმსივნესაც. აგრეთვე გამოკვეთილია Hereditary Prostate cancer gene 1 (HPC1) გენის მუტაცია. საეთო ჯამში შეგვიძლია ვთქვათ, რომ მრავალი გენის მუტაციამ შეიძლება გამოიწვიოს პროსტატის სიმსივნის განვითარება, მაგრამ ერთი გამოკვეთილი გენი არ არსებობს, რომელიც შეიძლება მისი მიზეზი გახდეს [18-19].

პროსტატის საბოლოო დიაგნოზი ხდება ბიოფსიით. გამოკვლევები: პროსტატსპეციფიური ანტიგენი, ულტრაბგერა, ტრანსრექტალური

ულტრასონოგრაფია, თითით, რექტალური გასინჯვა Digital rectal examination. საჭიროების შემთხვევაში ასრულებენ მაგნიტურ-რეზონანსურ გამოკვლევას და კომპიუტერულ ტომოგრაფიას.
სკრინინგის ფორმებია რექტალური გასინჯვა, პროსტატ-სპეციფიური ანტიგენის განსაზღვრა. თუმცა ბოლო კვლევებით სკრინინგის მნიშვნელობა ეჭვქვეშ დგას, რადგან იგი არ ამცირებს ან შეუმჩნევლად ამცირებს სიმსივნით სიკვდილიანობას. პრევენციისათვის მნიშვნელოვანია ცხოვრების ჯანსაღი წესი, ვარჯიში და დიეტა [20-21].

2.3. სიმსივნის თერაპია

სიმსივნის დიაგნოსტიკისათვის მიმართავენ ავადმყოფის კლინიკურ-ინსტრუმენტულ გამოკვლევას, კერძოდ, რენტგენოლოგიურს, რადიოიზოტოპულს, თერმოგრაფიულს, ენდოსკოპიურს, ციტოლოგიურს, მორფოლოგიურს, ბიოქიმიურს და იმუნოლოგიურ მეთოდებს. სიმსივნის ხასიათის დასადგენად (ვერიფიკაცია) გადამწყვეტია ბიოფსია და ბიუფსიური მასალის მორფოლოგიური გამოკვლევა [22].

სიმსივნის სამკურნალოდ იყენებენ ქირურგიულ, სხივურ და სამკურნალწამლო საშუალებებს, აგრეთვე მათ სხვადასხვანაირ კომბინაციას. მკურნალობის მეთოდების შერჩევისას მხედველობაში მიიღება სიმსივნის ლოკალიზაცია, ხასიათი (შენება), სტადია და მრავალი სხვა ფაქტორი. მაგალითად, კუჭისა და ნაწლავების კიბოს დროს უპირატესი მნიშვნელობა აქვს მკურნალობის ქირურგიულ მეთოდს; კანის, ტუჩის, საშვილოსნოს ყელის კიბოს დროს სხივურ მეთოდს; ლევკოზის, ქორიონეპითელოზის დროს - ქიმიოთერაპიულ მეთოდს;

სარძევე ჯირკვლის კიბოს დროს სამივე ამ მეთოდის კომბინაციას და ასე შემდეგ [22-23].

პროსტატის კიბოს მკურნალობის სწორი მეთოდის შერჩევისას აუცილებელია სიმსივნის კლასიფიკაციის, პროგნოზის, ჯანმრთელობის ზოგადი მდგომარეობის და არჩეული კლინიკისა და პერსონალის შესაძლებლობების გათვალისწინება. ყველაზე მნიშვნელოვანი ფაქტორებია სიმსივნის სტადია და დაავადების აგრესიულობა.

პლასტიკური ორქექტომია (რიზას ოპერაცია), როგორც პროსტატის პროგრესირებული კიბოს მკურნალობის ერთ-ერთი ძირითადი ფორმაა, იგი გულისხმობს ჰორმონალური დათრგუნვის გზით ავთვისებიანი სიმსივნის რეგრესს, თუმცა უნდა აღინიშნოს ისიც, რომ ამგვარი ქირურგიული მეთოდით მკურნალობა პალიატიურია და არ ითვალისწინებს პაციენტთა სრულ განკურნებას. თუ გავითვალისწინებთ იმ ფაქტსაც, რომ ზოგიერთ შემთხვევაში ქირურგიული მკურნალობის პროცესში სიმსივნე განიცდის მუტაციას ჰორმონ-რეზისტენტულ ფორმად (რომელიც ძლიერი აგრესიულობით და მეტასტაზურობით ხასიათდება) ცხადი ხდება, რომ პროსტატის პროგრესირებული კიბოს მკურნალობის საქმეში მიუხედავად მთელი რიგი მწარმატებებისა ჯერ კიდევ რჩება საკითხები, რომელთა გადაწყვეტა პროსტატის კანცეროგენზში მრავალი პრობლემის გადაჭრას შეუწყობს ხელს [23-24].

პროსტატის კიბოს მართვის მეთოდებია:

* რადიკალური პროსტატექტომია

* სხივური თერაპია

* ჰორმონული თერაპია

* აქტიური მეთვალყურეობა

* დაკვირვება (დინამიკური მეთვალყურეობა)

* ახალი ექსპერიმენტული მეთოდები.

2.4 თანამედროვე ბიოტექნოლოგიური მიდგომები

ბიოტექნოლოგია არის ცოცხალ არსებათა გამოყენება სასარგებლო პროდუქტების, სამედიცინო პრეპარატების, ვაქცინებისა და წამლების დასამზადებლად.

XX საუკუნის 70-იანი წლებიდან მოლეკულურ ბიოლოგიაში ახალი ტექნოლოგიების შემუშავებამ შესაძლებელი გახადა მეტი ინფორმაცია დაგროვილიყო ცოცხალი ორგანიზმების, მათი ურთიერთქმედების, ფუნქციებისა და გენეტიკის შესახებ. ამასთან ერთად ამ ტექნოლოგიების გამოყენებით მოხერხდა ერთი სახეობის ორგანიზმიდან სხვა სახეობის ორგანიზმში გარკვეული გენების და შესაბამისად, ნიშან-თვისებების გადატანა. პირველი ასეთი წარმატებული ექსპერიმენტი 1973 წელს ბაქტერია E.coli-ზე განხორციელდა. 1978 წელს, კი შეიქმნა E.coli-ის შტამი, რომელიც ნახშირწყლებისა და ცხიმების მეტაბოლიზმის მარეგულირებელ ჰორმონს - ინსულინს ასინთეზირებდა. თანამედროვე ბიოტექნოლოგიის მეთოდების შედეგად შესაძლებელია მცენარის, ან ცხოველის ამა თუ იმ სახეობისათვის "სასურველი" თვისების მინიჭება. კერძოდ, ხდება ამ "სასურველი" თვისების განმაპირობებელი გენის ჩანერგვა მცენარეში ან ცხოველში [25].

ბიოტექნოლოგიის მეთოდების გამოყენებით მიიღება: გენმოდიფიცირებული პროდუქტები, სამკურნალო საშუალებები, ვაქცინები, საკვები პროდუქტები (ადამიანისა და ცხოველის), კვებითი ინგრედიენტები, პარფიუმერული ნაწარმი, სათესლე და სანერგე მასალა და ა.შ.

ბიოტექნოლოგიის სახეებია: ბიოინჟინერია, ბიომედიცინა, ნანომედიცინა, ბიოფარმაკოლოგია, ბიოინფორმატიკა და სხვა.

ბიოინჟინერია ან ბიოსამედიცინო ინჟინერია - ჯანდაცვის გაუმჯობესების მიზნით სამედიცინო პრობლემების გადაჭრას გულისხმობს ტექნიკური მიდგომების გამოყენებით. მაგ. ხელოვნური სახსრები, თირკმლის დიალიზი, სისხლისმიმოქცევის ხელოვნური აპარატი და სხვ

ბიოსამედიცინო ტექნოლოგიები უჯრედის ბიოლოგიის, გენეტიკისა და მოლეკულური ბიოლოგიის დაგროვილი სამეცნიერო და მეთოდური მიღწევების საფუძველზე შესაძლებელი გახდა ადამიანის ფართო სპექტრის დაავადებების პრევენციის, დიაგნოსტიკისა და მკურნალობის ახალი მეთოდების და მიდგომების შემუშავება. ბიოსამედიცინო ტექნოლოგიების სახეებია: უჯრედული თერაპია, გენეტიკური დიაგნოსტიკა, გენური თერაპია და სხვა [26-27].

2.5 ნანოტექნოლოგია

ბოლო წლებში ნანოტექნოლოგია გახდა ერთ-ერთი პერსპექტიული და დინამიურად განვითარებადი ინტერდისციპლინარული მეცნიერება. ნანომასალათა პრაქტიკაში გამოყენების ვრცელ ნუსხაში განსაკუთრებული ადგილი უჭირავს დანერგვას მედიცინასა და ფარმაკოლოგიაში. იგი წარმოადგენს პრიორიტეტულ მიმართულებას, რომელიც საშუალებას გვაძლევს, ვემსახუროთ საზოგადოების ყველაზე საჭირბოროტო პრობლემებს. ნანოტექნოლოგიისა და ბიოტექნოლოგიის მეცნიერული მიღწევების გაერთიანებას მივყავართ ახალი დისციპლინის – ნანობიოტექნოლოგიის შექმნამდე, რომლის განვითარება მოგვცემს ისეთ ნანოკონსტრუქციებს , რომლებსაც უნარი შესწევთ ბიოსისტემები მართონ მოლეკულურ დონეზე. ამ თვალსაზრისით განსაკუთრებით საყურადღებოა მაგნიტური ნანონაწილაკებისაგან შემდგარი ნანოსითხეები [28].

ნანოტექნოლოგია იძლევა ატომური და მოლეკულური მასშტაბების ობიექტების მანიპულირების საშუალებას. ის ეხმარება ადამიანს არა მარტო შეუიარაღებელი თვალით უხილავი ხელსაწყოების შექმნაში, არამედ იძლევა საშუალებას გაზარდოს მათი მოქმედებათა სიზუსტე და საიმედოობა. გარდა ამისა, ნანოტექნოლოგიის წყალობით შესაძლებელია შეიქმნას უჩვეულო თვისებებათა მატარებელი მასალები.

თანამედროვე მედიცინა იყენებს ნანოტექნოლოგიების რეალურ საშუალებებს, როგორიცაა ექსპრესს-ანალიზატორები - „ლაბორატორიები ჩიპზე“, 1 ჩიპის ზომაა 4ხ4სმ და ცვლის ლაბორატორიის მთელ კომპლექსს, შეუძლია დნმ/რნმ ანალიზი, ნათესაობის დადგენა, ონკოლოგიური დაავადებების ადრეული დიაგნოსტიკა, ცილებისა და სხვათა რაოდენობრივი განსაზღვრა, გენმოდიფიცირებული ორგანიზმების იდენტიფიცირება. ეს ჯუჯა-ლაბორატორია ასრულებს ერთდროულად 12 სხვადასხვა ნიმუშის ანალიზს 15-30 წუთში, რასაც ადრე რამდენიმე დღე სჭირდებოდა. კალიფორნიის უნივერსიტეტის მეცნიერებმა შექმნეს კოსმონავტებისათვის მობილური ტელეფონის ზომის მინიატურული ექსპრესს-ლაბორატორია, რომლის მეშვეობით შესაძლებელია 1 წვეთი სისხლით სრული ანალიზის მიღება 2 წუთში [28-29].

ნანოგანზომილების ბიოსენსორები გამოიყენება ონკოლოგიური დაავადებების დიაგნოსტიკისათვის ადრეულ სტადიაზე. ნანოქიმიის მეთოდების გამოყენებით შეიქმნა ფართო სპექტრის მქონე ახალი ნანოკატალიზატორები ქიმიური წარმოებისა და ლაბორატორიული პრაქტიკისათვის, ნანოსამკურნალწამლო საშუალებები თერაპიასა და ქირურგიაში, სტომატოლოგიურ პრაქტიკაში 28-30].

აქტიურად ვითარდება მუშაობა უჯრედებისათვის, ქსოვილებისათვის, ბაქტერიებისა და ვირუსებისათვის სხვადასხვა ტიპის კვანტური წერტილების ნიშნულის სახით გამოყენების მიმართულებით. მეცნიერების მიერ მიღებულია განსხვავებული შეფერილობის უნიკალური ფლუორესცენტული კვანტური წერტილები, რომლებიც იძლევიან შუქის უფრო მძლავრ ანარეკლს, ვიდრე ტრადიციული საღებავები, ახასიათებთ განსაკუთრებული ბიოინერტულობა (არ ახდენენ გავლენას ბიოლოგიურ ობიექტებზე) [30].

ნანოტექნოლოგიების მეშვეობით შესაძლებელია ვიზუალიზაცია - ორგანოებისა და ქსოვილების ცვლილებების დანახვა ავადმყოფობის დიაგნოზის დასასმელად. მაგნიტური რეზონანსი და კომპიუტერული ტომოგრაფია - შესანიშნავი მეთოდებია, მაგრამ ნანოტექნოლოგია შექმნის უფრო მგრძნობიარე და უზუსტესს ინსტრუმენტებს დიაგნოსტიკისათვის, რომლის ძირითადი მიზანი მდგომარეობს

იმაში, რომ ექიმებმა ავადმყოფობის იდენტიფიცირება მოახდინონ ადრეულ სტადიაზე.

ნანოსტრუქტუირებული სამკურნალწამლო პრეპარატები მცირე დოზებით მაღალი ეფექტურობით გამოყენების საშუალებას იძლევა. ჩატარებულია გამოცდა ნანოსტრუქტუირებულ ასპირინზე , პოლიფუნქციონალური უჯერი იმიდაზოლის წარმოებულებზე, ნანოვიტამინურ კომპლექსებზე და სხვა. შეიქმნა ახალი ბაქტერიოციდული და ვირუსსაწინააღმდეგო საშუალებები - ვერცხლის ნანონაწილაკები ცეოლითების ფორებში ჭრილობების ეფექტური შეხორცებისათვის, ვერცხლის ნანონაწილაკების და ბაქტერიოფაგების კომბინირებული გამოყენების შესაძლებლობა მნიშვნელოვანია ბაქტერიოლოგიასა და ვირუსოლოგიაში არსებული მრავალი პრობლემის გადასაწყვეტად [31].

შვედი მეცნიერების მიერ შექმნილია ახალი ტიპის შიდაუჯრედული ნანოსენსორი pH - ის გასაზომად, რომლის საშუალებითაც ადვილად დგინდება დაავადებულია თუ არა უჯრედი. ნანოსენსორის როლს ასრულებს თუთიის ოქსიდისაგან (ZnO) დამზადებული ნანოისარი, რომელიც იმდენად მგრძნობიარეა, რომ შესაძლოა განსაზღვროს ცალკეული ქიმიური ნივთიერება ცოცხალი უჯრედის სხვადასხვა უბანში [32].

ამრიგად, ნანოტექნოლოგიებს შესწევთ უნარი სულ ცოტა ხანში შეაღწიონ ადამიანის ორგანიზმის ნებისმიერ წერტილში, აიღონ ლოკალურად სადიაგნოსტიკო ინფორმაცია, მიაწოდონ ფარმაკოლოგიური საშუალებები და საუკეთესო შემთხვევაში ადგილზევე აწარმოონ „ნანოქირურგიული“ ოპერაციები – ათეროსკლეროზული ფოლაქის მოცილება, ავთვისებიანად გადაგვარებული სიმსივნური უჯრედების განადგურება, დაზიანებული ნერვული ბოჭკოების აღდგენა და ა.შ.

ნანოტექნოლოგიები მომავლის ტექნოლოგიაა, რომლის გამოყენება წარმატებით დაიწყო მედიცინაში და თანდათან უფრო ფართო გავრცელებას პოულობს. დღეს არსებული პროგნოზით 2015 წლისათვის იგი დაიკავებს წამყვან ადგილს მედიცინის უამრავს დარგში [33].

2.6. მაგნიტური ნანონაწილაკები

ბოლო 15-20 წლის მანძილზე მედიცინაში მკვლევართა განსაკუთრებულ ინტერესს მაგნიტური თვისებების მქონე ნანონაწილაკების გამოყენება იწვევს. ეს ინტერესი ძირითადად მათი მაგნიტური ველის საშუალებით დისტანციურად მართვის შესაძლებლობით არის განპირობებული. საინტერესოა, რომ დღეისათვის ამ ნაწილაკების გამოყენების ერთ-ერთ აქტუალურ მიმართულებას ონკოლოგიური დაავადებების მკურნალობის ახალი მეთოდების შემუშავება წარმოადგენს [34].

მედიცინაში მაგნიტური ნანონაწილაკები დიდი წარმატებით გამოიყენება დიაგნოსტიკაში (მათ შორის *in vitro*), მიზანმიმართული თერაპიის სახით და ბიოლოგიური ქსოვილების ხელოვნურად შესაქმნელად. ყველა ნანონაწილაკს მისთვის დამახასიათებელი თვისება აქვს და სხვადასხვა სფეროში სხვადასხვა სახით გამოიყენება, ამიტომ მათი მრავალფეროვნება მეტ შესაძლებლობას იძლევა. დღეისათვის მნნწ-ების ფართო სპექტრია სინთეზირებული, რომელთგან ნაერთების მცირე ტოქსიკურობისა და სტაბილური მაგნიტური მახასიათებლების გამო ყველაზე ფართოდ რკინის ოქსიდის (Fe_3O_4) ნანონაწილაკები გამოიყენება. ბიოლოგიური ქსოვილების თვისება გაატაროს მაგნიტური ველი, მნნწ-ების სასურველ ორგანოსა თუ ქსოვილში ლოკალური დაგროვების პირობებში, გარედან მიმართული მაგნიტური ველის ცვლილებით ამ ნაწილაკების ქცევის მართვის შესაძლებლობას განაპირობებს. მედიცინაში ნანონაწილაკების გამოყენების ყველაზე აქტუალურ მიმართულებას ონკოლოგიური დაავადებების მკურნალობის ახალი მეთოდების შემუშავება წარმოადგენს. ნაჩვენებია, რომ სიმსივნური უჯრედების ზოგიერთი ტიპი მეტად მგრძნობიარეა მაღალი ტემპერატურების მიმართ. ნანონაწილაკების გამოყენებამ საფუძველი ჩაუყარა ქსოვილებში ტემპერატურის გაზრდის საშუალებით სიმსივნეების მკურნალობის ერთ-ერთ მეთოდს - ლოკალურ მართულ ჰიპერთერმიას“ [34-35].

მნნწ-ებს ახასიათებთ არაერთი უნიკალურ მაგნიტური თვისება, მათ შორის სუპერპარამაგნეტიზმი (ერთ დომენიანი პატარა ზომის ნაწილაკების თვისება, რომლებსაც ნაწილაკის მთელ მოცულობაში ახასიათებთ ერთგვაროვანი

სპონტანური დამაგნიტება), კიურის დაბალი ტემპერატურა, მაღალი მაგნიტური ამთვისებლობა და ა.შ. ნნწ-ები წარმოადგენს დიდ ინტერესს მაგნიტური სითხეების, მონაცემთა შენახვა-განთავსების, კატალიზისა და ბიოგამოყენებების ფართო სპექტრის მკლევარებისთვის. ამჟამად ნანონაწილაკები აგრეთვე მნიშვნელოვნად გამოიყენება ბიოლოგიაში, მათ შორის მაგნიტური ბიოგანცალკევებისათვის და ბიოლოგიური ობიექტების გამოვლენისათვის (უჯრედი, ცილა, ნუკლეინის მჟავეები, ფერმენტები, ბაქტერიები, ვირუსები და ა.შ.), კლინიკური დიაგნოსტიკისათვის და თერაპიისათვის (მათ შორის მაგნიტურ რეზონანსული ტომოგრაფია, მნს-ით განპირორებული ჰიპერთერმია), წამლის მიზნობრივი მიწოდებისა და ბიოლოგიური მონიშვნისათვის[35]. მნს წარმოადგენს დენად გარემოში შეტივტივებულ Fe_3O_4 ულტრადისპერსიული ნნწ-ების სუსპენზიას, რომელსაც მეცნიერები იღებენ ორ და სამვალენტიან რკინის მარილების კრისტალჰიდრატების ნარევიდან ჭარბი ტუტით დალექვის გზით [36].

მნნწ-ები გამოიყენება სისხლის გასასუფთავებლად ტოქსიკური ნივთიერებებისაგან, ონკოლოგიური დაავადებების წინააღმდეგ; იმუნონანოსფეროები - შერჩევითი ფოტოთერმული, კომბინირებული თერაპიისათვის, ონკოლოგიური წარმონაქმნების აღმოსაჩენად და სამკურნალოდ [36-37].

ნანონაწილაკების მეშვეობით წყალბადის პეროქსიდი არის ორგანიზმში არსებული დაავადების ინდიკატორი . შექმნილია ნანონაწილაკები, რომელთაც შეუძლიათ ორგანიზმში ანთებითი პროცესის დროს წარმოქმნილი წყალბადის პეროქსიდის აღმოჩენა და რაოდენობრივი განსაზღვრა. ითვლება, რომ დაავადებული უჯრედების უმრავლესობა ადრეულ სტადიაზე გამოყოფს წყალბადის პეროქსიდს . სინთეზირებულ ნანონაწილაკებს შეუძლიათ წყალბადის პეროქსიდის ნანომოლარული კონცენტრაციების აღმოჩენა [38]. ნანონაწილაკის შეყვანა შესაძლებელია ნემსით სხეულის განსაზღვრულ უბანზე. წყალბადის პეროქსიდთან შეჯახებისას ის აფრქვევს შუქს. თუ ექიმი შენიშნავს მნიშვნელოვან ნათებას გამოსაკვლევ უბანში, ეცოდინება, რომ ეს არის დაავადების ადრეული ნიშნები. ნანონაწილაკის გარსი დამზადებულია პეროქსალატის ეთერის

პოლიმერისაგან, შედგება ფლუორესცენტული საღებავის - პენტაცენისაგან. როდესაც ნანონაწილაკი შეეჯახება წყალბადის პეროქსიდს, საღებავი გადადის აგზნებულ მდგომარეობაში და აფრქვევს ფოტონებს (შუქს), რომელთა აღმოჩენა შესაძლებელია უბრალო დეტექტორით. პოლიმერული გარსი ახდენს მორეაგირე ნივთიერებების (პენტაცენი და წყალბადის პეროქსიდი) იზოლირებას ბუნებრივ გარემოში, მაგრამ ათავსებს მათ რამდენიმე ნანომეტრის დაცილებით ერთმანეთისაგან. მაღალი ქიმიური სტაბილურობის, ფლუორესცენტული თვისებების ვარირებითა და ბიოლოგიურად აქტიური მოლეკულების კონიუგირების შესაძლებლობით სამიზნე ობიქტთან ეს ნანონაწილაკები გამოიყენება უჯრედის შიგნით მიმდინარე პროცესების შესასწავლად [38-39].

ნანონაწილაკებით შექმნილ მექანიზმებს აქვთ პოტენციალი რადიკალურად შეცვალონ სიმსივნის საწინააღმდეგო თერაპია. ნანონაწილაკები გვაძლევს საშუალებას დავინახოთ ის მოლეკულები და უჯრედები, რომელსაც რუტინული ტესტებით და მეთოდებით ვერ გამოვყოფთ. ის ფაქტი, რომ შეგვიძლია მონიტორინგი ვაწარმოოთ სიმსივნურ უჯრედზე, წარმატებულს ხდის ნანონაწილაკების გამოყენებას სადიაგნოსტიკოდ და სამკურნალოდ და ფარმაკოლოგიური პრეპარატების და საკონტრასტო ნივთიერებების ტრანსპორტირებისათვის [35].

საკმაოდ ეფექტურადაა შესაძლებელი ნანოტექნოლოგიური საშუალებების გამოიყენება ფარმაკოლოგიური პრეპარატების ორგანიზმში შესაყვანად. ნანოსკალებს და ნანონაწილაკებს წამლის მოლეკულები მიაქვთ უშუალოდ იმ ადგილამდე, სადაც ყველაზე მეტადაა მედიკამენტის მოქმედება საჭირო. შესაბამისად, მინიმალურ დროში ჩვენ ვიღებთ მაქსიმალურ ეფექტს[40].

წამლის მიწოდების სისტემაში ძირითადად გამოიყენება ლიპიდებზე და ლიპომერებზე დაფუძნებული ნანონაწილაკების სისტემები. მათი ეფექტურობა ფარმაკოლოგიური პრეპარატების ფარმაკოკინეტიკაში და ბიოდისტრიბუციის პროცესებში ჩართვაში მდგომარეობს[41].

თუ ფარმაკოლოგიური პრეპარატების დიდი ზომის მოლეკულები ჩვეულებრივ შემთხვევში ტრანსფორმაციის დროს გამოიყოფა ორგანიზმიდან, ასეთი ტიპით მიწოდებული წამლის ნანონაწილაკები კავდება სიმსივნურად დაავადებული უჯრედების მიერ, რაც გარკვეულწილად განპირობებულია მათი მცირე ზომით.

წამლის მიწოდების ასეთი ტიპი თანდათან ვითარდება და შესაძლებელია პრეპარატის ფიქსირება როგორც პათოლოგიურად სახეშეცვლილი უჯრედის მემბრანაზე, ასევე უჯრედის შიგნით[40].

2.7. აპოპტოზი

შეიძლება ითქვას, რომ აპოპტოზი ეს არის დნმ-ში ინტეგრირებული ბრძანების კოდი, პროგრამა - სამოქმედო ინსტრუქციები კონკრეტული უჯრედის თვითლიკვიდაციისათვის. აუცილებელი არაა ეს უჯრედი იყოს დაბერებული, ან ქიმიური თუ ფიზიკური ფაქტორებით დაზიანებული, ის შეიძლება სრულიად ჯანმრთელიც კი იყოს, მაგრამ მან ორგანიზმის მარეგულირებელი სისტემებისგან მიიღოს ბრძანება თვითგანადგურებისათვის [42].

აპოპტოზი ესაა ორგანიზმის თავდაცვის ერთ-ერთი ურთულესი და სრულყოფილი საშუალება. ზოგიერთ ბაქტერია და ვირუსი უჯრედებს გარეგნული ზემოქმედებით ანადგურებს, ზოგიერთი კი თვითონ უჯრედში აღწევს და იქ ,,იბუდებს".უჯრედში შეღწეული ბაქტერიისათვის თუ ვირუსისათვის მეტად ხელსაყრელი პირობებია. ის ემალება ორგანიზმის იმუნურ, მკვლელ უჯრედებს და დაუბრკოლებლად ასრულებს მის ძირითად ფუნქციას: მრავლდება და ახდენს თავისი დნმ-ის რეალიზებას, რისთვისაც თავისუფლად იყენებს უჯრედის რესურსებს, მაგრამ ადრე თუ გვიან ,,მასპინძელი" უჯრედი მოახერხებს და თავის ზედაპირზე გამოიტანს შეტყობინებას (მოლეკულების სახით), მისი ინფიცირების

და მასში მყოფი მავნე უცხო სხეულის შესახებ. ამ შეტყობინების გამოტანისთანავე იმუნური სისტემის გააქტიურება იწყება, მოქმედებას იწყებს ორგანიზმის სისხლის თეთრი სხეულაკები, ლეიკოციტები. თუმცა რადგან ვირუსი (ზოგადად უცხო სხეული) უჯრედშია შეყუჟული და მას ლეიკოციტები პირდაპირ ვერაფერს დააკლებენ, ამ შემთხვევაში იმუნიტეტისაგან ინფიცირებულ უჯრედს ეგზავნება აპოპტოზის ბრძანება. აპოპტოზის სიგნალის შემდეგ, დნმ-ი რთავს თვითლიკვიდაციის ალგორითმს და იღუპება, მასთან ერთად იღუპება ვირუსიც. გარდა ვირუსებისა და ბაქტერიებისა, ორგანიზმი აპოპტოზს იყენებს სიმსივნური უჯრედების გასანადგურებლადაც, სამწუხაროდ ეს უკანასკნელნი მაქსიმალურად ცდილობენ , რომ არ იყვნენ ამოცნობილნი იმუნური სისტემის მიერ, ან ქმნიან ისეთ პირობებს, რომელშიც იმუნური უჯრედები ინაქტივირდებიან, მაგრამ თუ მუტაგენურ უჯრედებს ეს არ გამოუვათ, მაშინ მათ აუცილებლად ჩაერთვებათ აპოპტოზი, რომელიც, თუ მისი სარეგულაციო მექანიზმები მოშლილი არაა, გარდაუვალი და საბოლოოა [42-43].

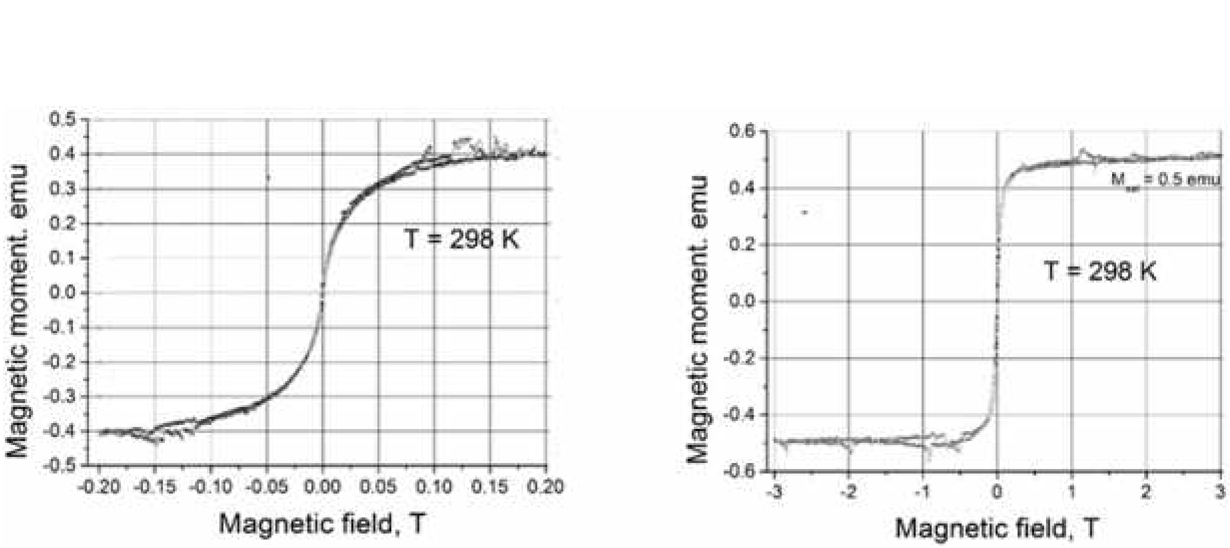
3. კვლევის მასალა და ობიექტი

3.1 შიშველი (შემოუგარსავი) რკინის ოქსიდის მაგნიტური ნანოაწილაკები

მაგნიტური ნანომასალები შესაძლებელია შეიქმნას მთელი რიგი ფიზიკური და ქიმიური საშუალებებით, რომლებიც განასხვავებენ პროდუქტს საბოლოო თვისებებით. პირდაპირი გზით მიღებული რკინის ოქსიდის ნანონაწილაკების პროდუქტი წარმოადგენს ორგანულად ხსნადებს, რაც შემოფარგლავს მათი მოხმარების ბიოლოგიურ სფეროს. ამის გამო, არსებითია მოხდეს რკონნწ-ის ზედაპირის დამუშავება ჰიდროფილური მოლეკულებით რაც უზრუნველყოფს ნაწილაკების აგლომერაციის მინიმიზაციას.

მნნწ-ების მომზადების მთავარ საგანს შეადგენს ნაწილაკის ზომის ზუსტი კონტროლი და კოლოიდის სტაბილურობა/დისპერსიულობა ფიზიკურ პირობებში. ამ თვისებების მოდულირება შესაძლებელია ნაწილაკების შემოგარსვის სხვადასხვა გზით: ან რკონნწ-ები ფიზიკურად ინერგება პოლიმერის მატრიცაში ან ხდება მათი ზედაპირის ფუნქციონალიზაცია პოლიმერის მოლეკულებით.

რკინის ოქსიდის სინთეზი ხორციელდება 2.9 გრამი $FeCL_3 \cdot 6H_2O$ და 1.1 გრამი რკინის $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ მარილების გახსნით 15 მლ დისტილირებულ წყალში. წყალხსნარს უჟანგბადო არეში წვეთ-წვეთობით ემატება 25 %-იანი NH_4OH-ის ხსნარი მუდმივი შერევის პირობებში 70-80^{0}C ტემპერატურაზე სანამ pH არ გახდება 9.0 რეაქციის შემდგომ მორევა გრძელდება 1 საათი. შემდგომ ხსნარი მუშავდება ელექტროჰიდრავლიკური დანადგარით ნახევარი საათის განმავლობაში. მიღებულ მაგნიტურ ნანონაწილაკებს ემატება 25 მლ ოლეინის მჟავა და მაგნიტური ნანოსითხე თავსდება მაგნიტურ მომრევზე. მორევა გრძელდება 25 წუთი მუდმივ ტემპერატურაზე (70^{0}C). შემდგომ მიღებული სითხე ცივდება 45^{0}C-მდე, ემატება 2.5 გრ PEG და მორევა ხორციელდება 24 საათის განმავლობაში. მნნწ-ების მომენტების დამოკიდებულება მაგნიტური ველისაგან წარმოდგენილია სურ 1-ზე.



სურათი 1. PEG-ით შემოგარსული და ელექტროჰიდრავლიკით დამუშავებული მნნწ-ების მომენტების დამოკიდებულება მაგნიტური ველისაგან

3.2 PEG-ით შემოგარსული რკინის ოქსიდის მაგნიტური ნანონაწილაკები

მნნწ-ების ზედაპირის მოდიფიკაციისათვის, მათი ფუნქციის გაზრდის მიზნით, გამოიყენება განსაზღვრული პოლიმერები. ამ პოლიმერებს მიეკუთვნება სახამებელი (კრახმალი), დექსტრანი, დენდრიმერები, პოლივინილის სპირტი, PEG და პოლიეთილენის ოქსიდი (PEO). ყოველი მათგანი ცნობილია, როგორც ბიოლოგიურად თავსებადი. ყველაზე უფრო წარმატებული განვითარება ნანოკომპოზიტების მიმართულებით არის ის, რომ შემოგარსული ნაწილაკების როგორც ბირთვი ასევე შემომგარსველი მასალა ნანომეტრულ შკალაზე ნაწილდება ერთგვაროვნად. რეაქციის პირველ ეტაპზე მიღებული ნაწილაკის შემოიფარგლება მანძილზე, რომელიც მეორე ეტაპზე იქნება გამოყენებული. ორი ფაზის აუცილებელი იდეალური განაწილება მიიღება მხოლოდ ნაწილაკების შემოგარსვით აქტიური ფაზით მოქმედ მანძილზე. შემოგარსვის ამ პროცესს მივყავართ ზედაპირული ენერგიის მინიმიზაციისკენ, რაც პრინციპიალურად მნიშვნელოვანია ნანომასალებისთვის.

PEG გამოიყენება ზედაპირულად აქტიური ნივთიერების სახით ვინაიდან დადგენილია, რომ PEG ცნობილია, როგორც ბიოთავსებადი პოლიმერი და საფარი ასრულებს ნაწილაკების აგლომერაციისაგან დამცავ როლს, ასევე იძლევა წყალში კარგ დისპერსიულობას, მნნწ-ების ზედაპირზე PEG-ის ჰიდროფილური ფენის უზრუნველყოფით. გარდა ამისა, PEG-ით შემოგარსული რკონნწ-ები არის მიზანშეწონილი და ბიოსამედიცინო დანიშნულებისთვის (სამკურნალწამლო საშუალებების მიზანმიმართული მაგნიტური მიწოდება, მაგნიტურ რეზონანსული ტომოგრაფია, სამკურნალწამლო საშუალებების გადაზიდვა და ა.შ.) იმედის მომცემი მასალები.

PEG-ით სტაბილიზირებული ნანოსითხე მზადდება ქიმიური თანადალექვის მეთოდით ჭარბი PEG-ის პირობებით. 5 მლ მოცულობის წყალი თავსდება სინჯარაში, რომლის ირგლივ ცირკულირებს წყალი 45^{0}C-ზე და ემატება PEG 0.5-დან 8.0 გრ-ის ოდენობით. პოლიმერის ხსნადობა ხორციელდება მაგნიტური შერევით. პოლიმერის გახსნისთანავე ხდება 0.16 გრ $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ და 0.435 გრ

$FeCL_3 \cdot 6H_2O$ (1:2 მოლური თანაფარდობით $FeCl_2/FeCl_3$) დამატება. როდესაც PEG და რკინის მარილები კარგად გაზავდა, 10 მლ 0.75 მ NH_4OH ხსნარი ემატება ინტენსიური მაგნიტური შერევის პირობებში 0.6 მლწთ$^{-1}$ სიჩქარით. NH_4OH დამატების შემდეგ ხსნარი ირევა 30 წთ-ის განმავლობაში. ამის შემდგომ ნანოსითხე გადაისხმება ქიმიურ ჭურჭელში და ის იდება მუდმივ მაგნიტზე. ნანოსითხე ირეცხება ოთხჯერ სითხის ზედა ნალექის დეკანტაციის გზით ჭარბი პოლიმერის მოშორების მიზნით, ვინაიდან შექცევადი ფლოკულაცია და სწრაფი სედიმენტაცია შეიმჩნევა გამორეცხვის წინ. ეს გამოწვეულია მიზიდვის გამოხშირვით, რაც წარმოიქმნება ხსნარში პოლიელექტროლიტების არაადსორბციით. და ბოლოს, წყალი ემატება სასურველი კონცენტრაციის მიღებამდე და მიღებული სუსპენზია ექვემდებარება სონიკაციას 12 წთ-ის განმავლობაში. დამზადებული ფეროსითხე ითვლება კვლევისთვის მისაღებად, თუ ის აკმაყოფილებს შემდეგ პირობებს: ა) მნნწ-ები მომზადების შემდეგ არ ილექება, ბ) 100 ნმ ჰიდროდინამიური დიამეტრი უფრო დიდი დიამეტრის ნიმუშების გამოსარიცხავად განიხილება ზღვრულ მნიშვნელობად, გ) პოლიდისპერსიულობის ინდექსი არის <0.3 და დ) სიბლანტე არ უნა იყოს შესამჩნევად (ზედმეტად) მაღალი (შესაძლებელი უნდა იყოს ფეროსითხის მარტივად გადასხმა).

PEG-ის რაოდენობის მნიშვნელობა, რომელიც საჭიროა ზემოთ ხსენებული კრიტერიუმების მქონე ნანოსითხის მისაღებად მერყეობს 1.5 გრ-დან 6.0 გრამამდე პეგ 4000-სთვის. 1,5 გრ ნაკლებ წონაზე არ წარმოიქმნება ნანოსითხე (ან ილექება მომზადებიდან 30 წუთში), 6.0 გრ წონაზე მაღლა, ადსორბირებული PEG-ის რაოდენობა ნაჯერ მნიშვნელობას აღწევს. 6000 PEG-სთვის არეალი იცვლება 1.5-დან 4.5-მდე. 1.5 გრ-მზე დაბლა PEG 6000 არ ასტაბილიზირებს მაგნიტურ ნაწილაკებს. 4.5 გრ ზემოთ ნიმუშის სიბლანტე ხდება ძალიან მაღალი.

მიღებული ნანოსითხე არის გაუმჭვირვალე, სტაბილური დისპერსია, pH ~ 5.0 მნიშვნელობით. რკინის შემცველობის სპექტრი იცვლება PEG=ის რაოდენობისა და მოლეკულური წონის თანახმად. ფაზურ განცალკევებას ადგილი არ აქვს, როცა ნანოსითხე ექვემდებარება გარე მაგნიტური ველის ზემოქმედებას (~1 ტ), რაც იმის

დასტურია, რომ ნაწილაკები კარგად სტაბილიზირებულია. Fe_3O_4 ზედაპირის შემოგარსვის პროცესი იწვევს ნანონაწილაკის ბირთვი-გარსი ზომის მნიშვნელოვან (56-70 ნმ) მატებას.

3.3 RM-1 უჯრედები

RM-1 უჯრედები არის თაგვის პროსტატის კიბოს უჯრედული ხაზი. სიმსივნურ უჯრედებს ვინახავდი სრულ საკვებ არეში[RPMI 1640 არეს დამატებული 10% –იანი თერმოინაქტივირებული ხარის შრატი FBS, 500 მკლ PEN-STREP, 500 მკლ სოდიუმის პირუვატი, 500 მკლ MEM არაესენციალური ამინო მჟავების სხნარი] 370-C ტემპერატურაზე 5% CO2 პირობებში.

RM-1 უჯრედები პროსტატის სიმსივნის ეპითელური უჯრედებია, შესაბამისადაც სწრაფად მზარდი კულტურაა და in vivo მოდელებში 7 დღეში დაახლოებით 5 მილიმეტრამდე წარმონაქმს ვიღებთ 50000 უჯრედი/100 მკლ ინექციისას.

3.4 PC-3 უჯრედები

PC-3 უჯრედული , რომელიც შევიძინეთ SIGMA-ALDRICH-ისგან, არის ადამიანის პროსტატის კიბოს უჯრედული ხაზი. ის პირველად 1979 წელს გამოჰყვეს პროსტატის კიბოთი დაავადებული 62 წლის მამაკაცისგან.

PC-3 უჯრედებს ახასიათებთ ადჰეზია, სწრაფად გამრავლება და აქვთ მაღალი მეტასტაზური პოტენციალი. მათი გამოყენებით შესაძლებელია ქიმიოთერაპიული პრეპარატების ეფექტურობის დადგენა, ასევე იყენებენ თაგვებში კანქვეშა სიმსივნეების შესაქმნელად, რათა გამოიკვლიონ სიმსივნის თვისებები ორგანიზმში.

PC-3 უჯრედულ კულტურას ჩვენ ვინახავდით სრულ საკვებ არეში [RPMI-1640 არეს დამატებული 10% –იანი თერმოინაქტივირებული ხარის შრატი(FBS), 500 მკლ PEN/STREP, 1,5 მლ სოდიუმის პირუვატი] 370-C ტემპერატურაზე 5% CO2 პირობებში.

3.5 მიტოქსანტრონი (MITX)

MITX წარმოადგენს ანტრაქინონის სინთეზურ წარმოებულს ციტოსტატური (სიმსივნის საწინააღმდეგო) თვისებებით, რომლის სიმსივნის საწინააღმდეგო მოქმედება ბოლომდე შესწავლილი არ არის. თუმცა დადგენილია, რომ პრეპარატი „ჩაშენდება“ დნმ-ის მოლეკულის ფუძეებს შორის, რაც იწვევს როგორც რეპლიკაციის და ტრანსკრიპციის პროცესების დარღვევას, ასევე ტოპოიზომერაზა II-ის ბლოკირებას. MITX ახდენს არასპეციფიურ ზემოქმედებას უჯრედულ ციკლზე [44].

პრეპარატი ვენაში შეყვანის შემდეგ სწრაფად აღწევს ორგანოებში და მისი 78% უკავშირდება პლაზმის ცილებს, რომლებიც დამოკიდებული არ არის მის კონცენტრაციაზე. MITX მაღალი კონცენტრაციით აღინიშნება ღვიძლში, ფილტვებში, ძვლის ტვინში, გულში, ფარისებრ ჯირკვალში, კუჭქვეშა ჯირკვალში, ელენთაში, თირკმელზედა ჯირკვალსა და ღვიძლში.
პრეპარატი ბიოტრანსფორმაციას განიცდის ღვიძლში. გამოიყოფა ნაღველით (დაახლოებით 25%) და შარდით (6-11%, საიდანაც 65 % გამოიყოფა უცვლელი სახით). პრეპარატის დოზის დიდი ნაწილი აქტიურად უკავშირდება ქსოვილებს, საიდანაც თანდათანობით ხდება მისი გამონთავისუფლება. ნახევრადგამოყოფის პერიოდი შეადგენს 5-8 დღეს.

პაციენტებს, რომლებსაც დარღვეული აქვთ ღვიძლის ფუნქცია, აღენიშნებათ პრეპარატის ელიმინაციის სიჩქარის დაქვეითება. პრეპარატი ვერ აღწევს ჰემატოენცეფალურ ბარიერს.

MITX გამოიყენება მოზრდილებში მწვავე არალიმფობლასტური ლეიკოზის, სარძევე ჯირკვლის ავთვისებიანი სიმსივნის, ღვიძლის პირველადი უჯრედოვანი სიმსივნის, საკვერცხეების სიმსივნის სამკურნალოდ.

პრეპარატი აგრეთვე გამოიყენება მდგრადი წინამდებარე ჯირკვლის კიბოს ქიმოთერაპიის დროს.

MITX ხასიათდება სინერგისტული მოქმედებით სხვა მრავალი ციტოსტატური საშუალებების მიმართ, მაგალითად, როგორიცაა: ციტარაბინი, ცისპლატინი, ციკლოფოსფამიდი, 5-ფტორურაცილი, მეტოტრექსატი, ვინკრისტინი, დაკარბაზინი. პრეპარატისადა სხვა სიმსივნის საწინააღმდეგო საშუალების კომბინაცია იწვევს მის კარდიო- და მიელოტოქსიური მოქმედების გაძლიერებას.

3.6 ლაბორატორიული ცხოველები

In vivo კვლევები თაგვებზე მიმდინარეობდა ივ.ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო უნივერსიტეტის ვივარიუმში სტანდარტული გაიდლაინის მიხედვით.

აღნიშნელი თაგვები ადვილად მრავლდება და ჯანმრთელობის პრობლემები ნაკლებად აღენიშნებათ. ისინი გამოიყენება მრავალი ტიპის კვლევებში. ხშირად იყენებენ სიმსივნის ბიოლოგიაში, როგორც *in vivo* მოდელებს. მოსახერხებელია მათგან გენეტიკურად მოდიფიცირებული თაგვების მიღება.

3.7. ცხოველური მოდელები სიმსივნეებში

გენური ინჟინერიით მიღებული თაგვების ხაზებმა მნიშვნელოვანი წვლილი შეიტანა სიმსივნის ბიოლოგიის შესწავლაში. ისინი წარმატებით გამოიყენებიან გენეტიკური და მოლეკულური მექანიზმების უკეთ შესასწავლად, ახალი ონკოგენების, სიმსივნის ბიომარკერების აღმოჩენისათვის, უკეთესი კლინიკური მოდელებისა და მათზე ახალი თერაპიული სტრატეგიების გამოცდისათვის. მიუხედავად ამისა, ლაბორატორიულ თაგვებს სხვადასხვა შეზღუდვები აქვთ, როდესაც ადამიანის სიმსივნის მოდელად ვიყენებთ. ეს სახეობათაშორის განსხვავებებს გულისხმობს.

სამომავლოდ მრავალი გამოწვევაა უკეთესი ცხოველური მოდელების მისაღებად, რათა უფრო ზუსტი შედეგები მივიღოთ მოლეკულურ, უჯრედულ და გენომურ მექანიზმების შესასწავლად სიმსივნის ბიოლოგიაში, ასევე უკეთესი ტექნოლოგიების შესაქმნელად სიმსივნის *in vivo* იმიჯინგსა და მაღალმგრძნობიარე სკრინინგისთვის.

4. კვლევის მეთოდები

კვლევისათვის გამოვიყენეთ ლაბორატორიული დიაგნოსტიკის როგორც *in vitro*, ასევე *in vivo* მეთოდები.

ექსპერიმენტულ ცხოველებზე ჩატარებული მანიპულაციები და კვლევის დიზაინი განხილული და ნებადართულია ეთიკური კომისიის მიერ.

4.1 თაგვის პროსტატის სიმსივნის მოდელის მიღება და მნნწ-ების *in vivo* კვლევა

RM-1 სიმსივნის უჯრედებს ვინახავდით ზრდის ხსნარში 370-c-ზე 5% co2 ინკუბატორში. *In vivo* კვლევისათვის PBS-ში გახსნილი უჯრედები (50000 უჯრედი/100მკლ) შევიყვანეთ კანქვეშ (კისრის არეში) თეთრ თაგვებში. როდესაც სიმსივნის ზომამ მიაღწია 5მმ-ს დავიწყეთ მნნწ-ებისა და MITX შეყვანა, შიშველი მნნწ (კონც.0.04გრ/100მლ) 100მკლ და PEG-ით დაფარული მნნწ (კონც.0.08გრ/100მლ) 100მკლ სიმსივნეში, MITX (კონც.1,25მლგ/1 მლ) 100 მკლ პერიტონიუმში, თითოეული შეგვყავდა ყოველ მეორე დღეს, ორი კვირის განმავლობაში.

სიმსივნის არსებობა პალპაციით ისინჯებოდა ერთი კვირის შემდეგ. სიმსივნის ზრდას ვზომავდით ყოველ მეორე დღეს მიკროკალიპერის გამოყენებით, ექვსი შეყვანის შემდეგ როდესაც სიმსივნის ზომამ 20 მმ-ს მიაღწია მოვახდინეთ ცხოველების ევთანაზია. მოცულობას ვითვლიდით ფორმულით m12 x m2 x 0.5236, სადაც m1 გამოხატავს მოკლე ღერძს და m2 გრძელ ღერძს.

ექსპერიმენტული ცხოველები დავყავით ექვს ჯგუფად მიზნობრიობის მიხედვით.

პირველ ჯგუფში გვყავდა თაგვები, რომლებსაც შევუყვანეთ RM-1 უჯრედები და ვმკურნალობდით შიშველი მნნწ-ებით.

მეორე ჯგუფს შევუყვანეთ RM-1 უჯრედები და ვმკურნალობდით PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ებით.

მესამე ჯგუფს შევუყვანეთ RM-1 უჯრედები და ვმკურნალობდით შიშველი მნნწ-ებისა და MITX-ისა და კომბინაციით.

მეოთხე ჯგუფს შევუყვანეთ RM-1 უჯრედები და ვმკურნალობდი PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ებისა და MITX-ის კომბინაციით

მეხუთე ჯგუფს შევუყვანეთ RM-1 უჯრედები და ვმკურნალობდით MITX-ით

მეექვსე ჯგუფი იყო საკონტროლო, რომლებსაც შევუყვანეთ RM-1 უჯრედები და არ ვმკურნალობდით (მათთვის შეგვყავდა PBS), რათა დაგვენახა კონტრასტი ნამკურნალებ და არანამკურნალებ ცხოველებს შორის.

4.2. RM-1 და PC-3 უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შეფასება MTT მეთოდით -მნნწ-ების *in vitro* კვლევა

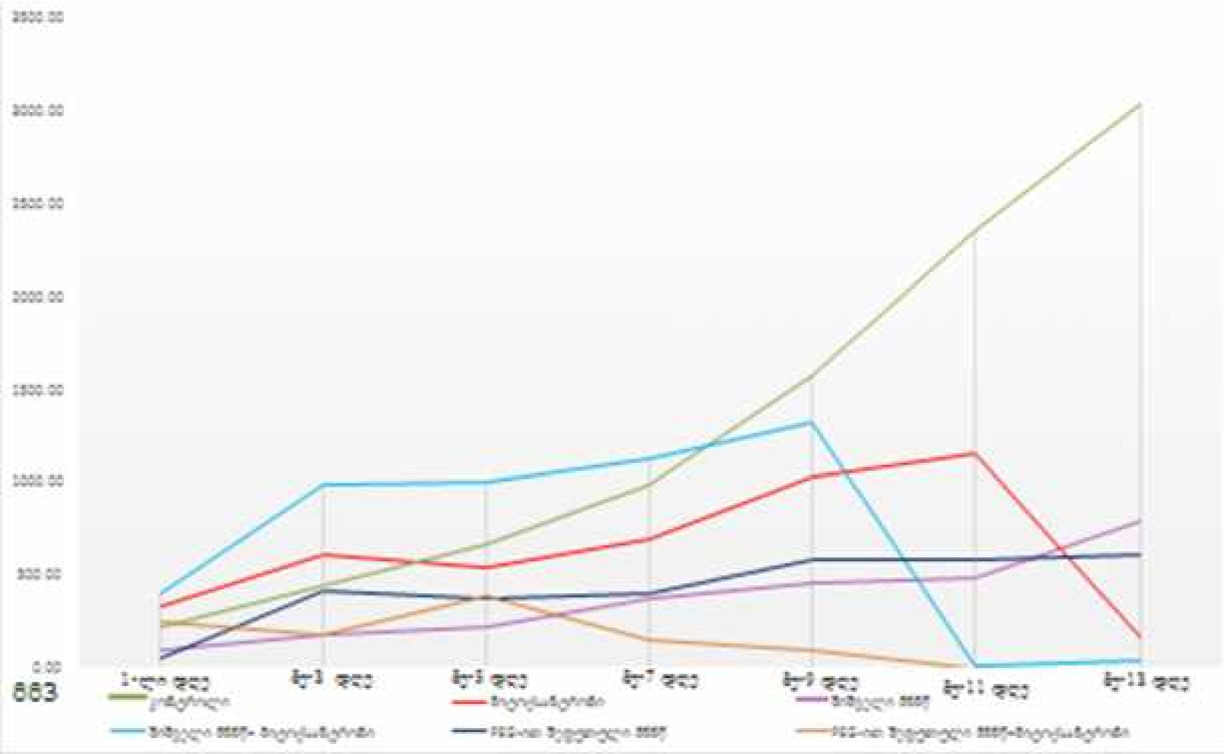
RM-1, PC-3 უჯრედების კულტურა გამოვყინეთ 37^{0}C წყლის აბაზანაზე შესაბამისი პროტოკოლის მიხედვით და ვამრავლებდით 370-C 5% CO2 ინკუბატორში. უჯრედების გამრავლების შემდეგ, მათ დუბლიკატებს ვათავსებდით პლანშეტის ფოსოებში შესაბამისი ჯგუფების მიხედვით (ექვსი ჯგუფი: 1 ჯგუფი-კონტროლი, 2 ჯგუფს-ემატებოდა შიშველი მნნწ, 3 ჯგუფს-ემატებოდა PEG-ით შემოგარსული მნნწ, 4 ჯგუფს-ემატებოდა შიშველი მნნწ + MITX, 5 ჯგუფს-ემატებოდა PEG-ით შემოგარსული მნნწ+MITX, 6 ჯგუფს-ემატებოდა MITX, გამოვიყენეთ MITX-ის სამი კონცენტრაცია: 0.5mM, 1.5 mM, 3mM) თითოეულ ფოსოში იყო 10000 უჯრედი/100 მკლ კონცენტრაციით სრულ საკვებ არეში . შემდგომ ვახდენდით ინკუბაციას ღამის განმავლობაში. ინკუბაციის დასრულებისას უჯრედებს ვამატებდით საკვლევ პრეპარატებს (შიშველი მნნწ 100მკლ კონც. 0,04გრ/100მლ, PEG-ით შემოგარსული მნნწ 100მკლ კონც.0,08გრ/100მლ. MITX 100 მკლ კონც.1,25მლგ/მლ, კონტროლს ვამატებდით 100მკლ PBS-ს და ვახდენდით 1 სთ ინკუბაციას, შემდეგ ვრეცხავდით სამჯერ PBS-ში. გარეცხვის შემდეგ ვამატებდით

100 მკლ სრულ საკვებ არეს, ხოლო უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის შესაფასებლად თითოეულ ფოსოში ვამატებდით WST-ს (10მკლ) . ცოცხალი უჯრედები WST-ს გარდაქმნიან ფორმაზანის კრისტალებად, რომელთა კონცენტარაციას ვზომავდით სპექტროფოტომეტრის აპარატზე (ტალღის სიგრძე 430,650) და ვაფასებდით პრეპარატების ციტოტოქსიკურობას. გაზომვას ვახდენდით 0 ,5სთ-იანი, 24 სთ-იანი, 48 სთ-იანი და 72 სთ-იანი ინტერვალით. WST-ს ვამატებდით უშუალოდ გაზომვის წინ.

5. ექსპერიმენტული კვლევის შედეგები და განხილვა

5.1. მნნწ-ების მოქმედების შედეგები თაგვის პროსტატის სიმსივნის *in vivo* მოდელში

მაგნიტური ნანონაწილაკებისა (მნნწ) და ქიმიოთერაპიული საშუალების - მიტოქსანტრონის (MITX) თერაპიული ეფექტის (კომბინაციაში და ცალცალკე) შესაფასებლად, თაგვის პროსტატის სიმსივნის *in vivo* მოდელში ვახორციელებდით სიმსივნის ზრდის მონიტორინგს (დიაგრამა #1).



<u>დიაგრამა N 1.</u> პროსტატის სიმსივნის ზრდის მონიტორინგი, მნნწ-ისა და MITX-ის თერაპიული ეფექტის შეფასება

როგორც დიაგრამაზე ჩანს, კვლევის დიზაინის მიხედვით გამოვყავით ექვსი საკვლევი ჯგუფი, სადაც შიშველი და PEG-ით დაფარული მნნწ-ები ცალ-ცალკე და MITX_თან ერთად კომბინაციაში შეგვყავდა ორი კვირის განმავლობაში, ყოველ მეორე დღეს და შესაბამისად სიმსივნე იზომებოდა ყოველი შეყვანის წინ. კვლევის დასრულების შემდეგ მოვახდინეთ თაგვების ევთანაზია შესაბამისი ეთიკური ნორმებისა და სტანდარტების დაცვით.

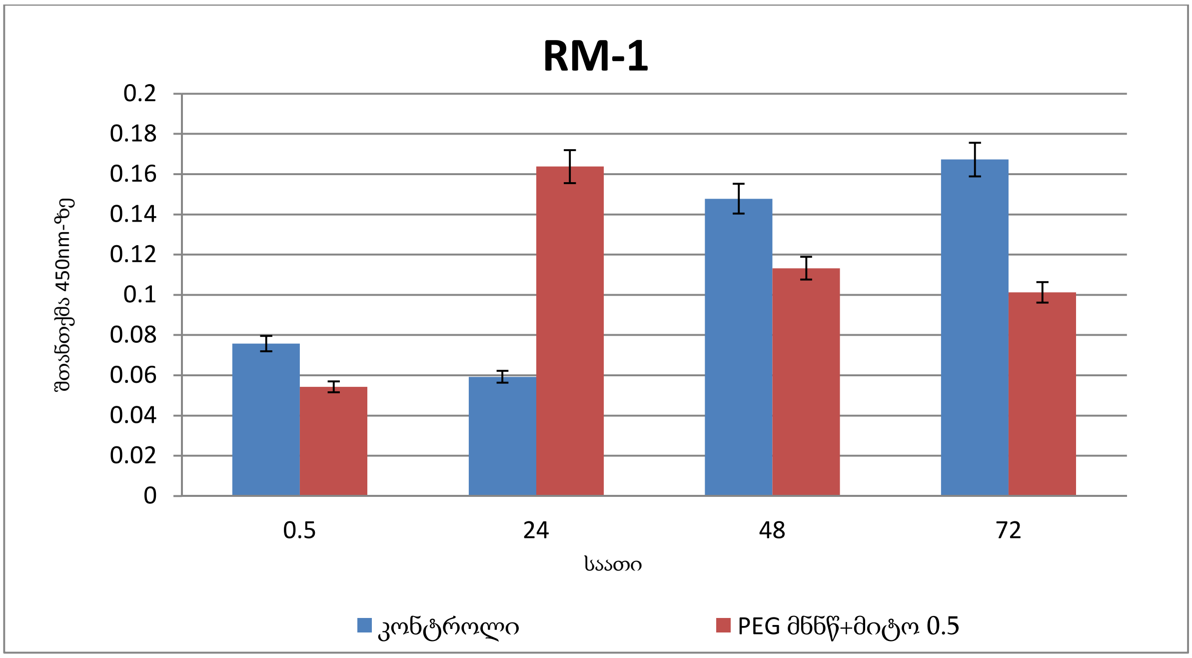
კვლევის შედეგებმა გვიჩვენა, რომ იმ ჯგუფებში, რომლებსაც ვმკურნალობდით შიშველი და PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ებით, სიმსივნის ზრდა კონტროლთან შედარებით შეფერხდა (იისფერი და მუქი ლურჯი ხაზი), რაც მიუთითებს მნნწ-ების თერაპიულ ეფექტიანობაზე მკურნალობის დაწყების პირველივე დღეებში. რაც შეეება MITX-ს მისი თერაპიული ეფექტი მკვეთრად გამოვლინდა მე-11 დღეს (წითელი ხაზი), რასაც მოჰყვა სიმსივნის ზომის მკვეთრი კლება. აღსანიშნავია ის რომ MITX-ის ეფექტურობა გაიზარდა მისი შიშველ მნნწ-თან კომბინაციით (ცისფერი ხაზი) და PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ისა და MITX-ის კომბინაციის თერაპიული ეფექტურობა (ღია ყავისფერი ხაზი) პირველივე დღეებიდან მკვეთრად გამოვლინდა. მიღებული შედეგები გვიჩვენებს, რომ მაგნიტური ნანონაწილაკები კომბინაციაში ზრდის ქიმიოთერაპიული პრეპარატის ეფექტურობას, რაც განსაკუთრებით გამოვლინდა PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ისა და MITX-ის კომბინაციისას. ეს კომბინაცია აფერხებს სიმსივნის ზრდას და თერაპიული ეფექტი იწყება მკურნალობიდან მე-5 დღეს და გრძელდება კვლევის დასრულებამდე. აქედან გამომდინარე ნათელია, რომ PEG მნნწ გააძლიერა (დროში დააჩქარა) MITX-ის ეფექტურობა, ამასთანავე გამოავლინა შიშველ მნნწ-ებთან შედარებით უფრო ძლიერი ეფექტი. ამ შემთხვევაში სიმსივნემ კლება დაიწყო მე-9 დღიდან. გამომდინარე აქედან, ჩვენს მიერ ჩატარებული ინ ვივო კვლევის საფუძველზე შეგვიძლია დავასკვნათ, რომ მნნწ-ები აძლეიერებს ქიმიოთერაპიული საშუალების ეფექტურობას თაგვის პროსტატის სიმსივნის მოდელში.

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები კიდევ ერთხელ ადასტურებს კომბინირებული თერაპიის უპირატესობას (ნმნნწ+ქიმიოთერაპიული საშუალება)

მონოთერაპიასთან (მხოლოდ ქიმიოთერაპია) შედარებით და მნნწ-ებით ონკოთერაპიის გაუმჯობესების (ქიმიოთერაპიული საშუალების დოზის შემცირება, შესაბამისად გვერდითი ეფექტების შემცირება) საშუალებას იძლევა.

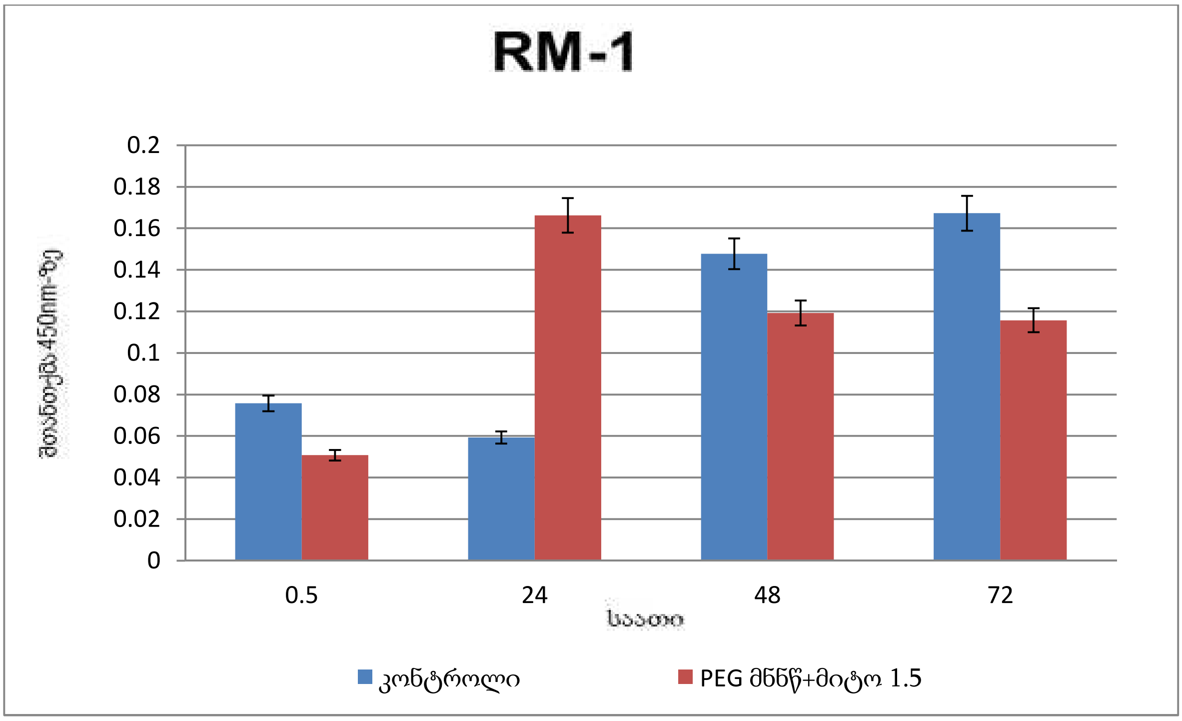
5.2. RM-1 უჯრედებზე მნნწ-ების მოქმედების *in vitro* შედეგები

ჩვენი კვლევის ინ ვივო შედეგებიდან გამომდინარე, გადავწყვიტეთ ინ ვიტრო კვლევა თაგვის სიმსივნურ უჯრედებზე დაგვეგეგმა ჩვენს მიერ გამოვლენილი ყველაზე ეფექტური კომბინაციით: PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ებისა და MITX-ის კომბინაციით. გამოვიყენეთ MITX-ის ორი კონცენტრაცია: 0,5mM და 1,5 mM.



<u>**დიაგრამა N2.**</u> PEG-ით შემოგარსული მნნწ+MITX **(0.5mM)** კომბინაციის გავლენა RM-1 უჯრედებზე.

RM-1 უჯრედებზე PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ებისა და MITX-ის კომბინირებული თერაპიული ეფექტის *in vitro* შესაფასებლად გამოვიყენეთ MTT მეთოდი. აღნიშნული მეთოდით ვახდენდით უჯრედების სიცოცხლისუნარიანობის დადგენას დროის სხვადასხვა ინტერვალში: 0,5სთ-იანი, 24სთ-იანი, 48სთ-იანი, 72სთ-იანი ინტერვალით, რისთვისაც თითოეული ჯგუფის შედეგს (დიაგრამა#2, დიაგრამა#3) აღვრიცხავდით სპექტროფოტომეტრის აპარატით 450 nm ტალღის სიგრძეზე.



<u>**დიაგრამა N3.**</u> PEG-ით შემოგარსული მნნწ+MITX (**1.5mM**) კომბინაციის გავლენა RM-1 უჯრედებზე.

როგორც დიაგრამა #2, დიაგრამა #3-ზე ჩანს PEG მნნწ+MITX-ის კომბინაცია დადებით თერაპიულ ეფექტს ავლენს 48 სთ-იან და 72სთ-იან გაზომვებში.

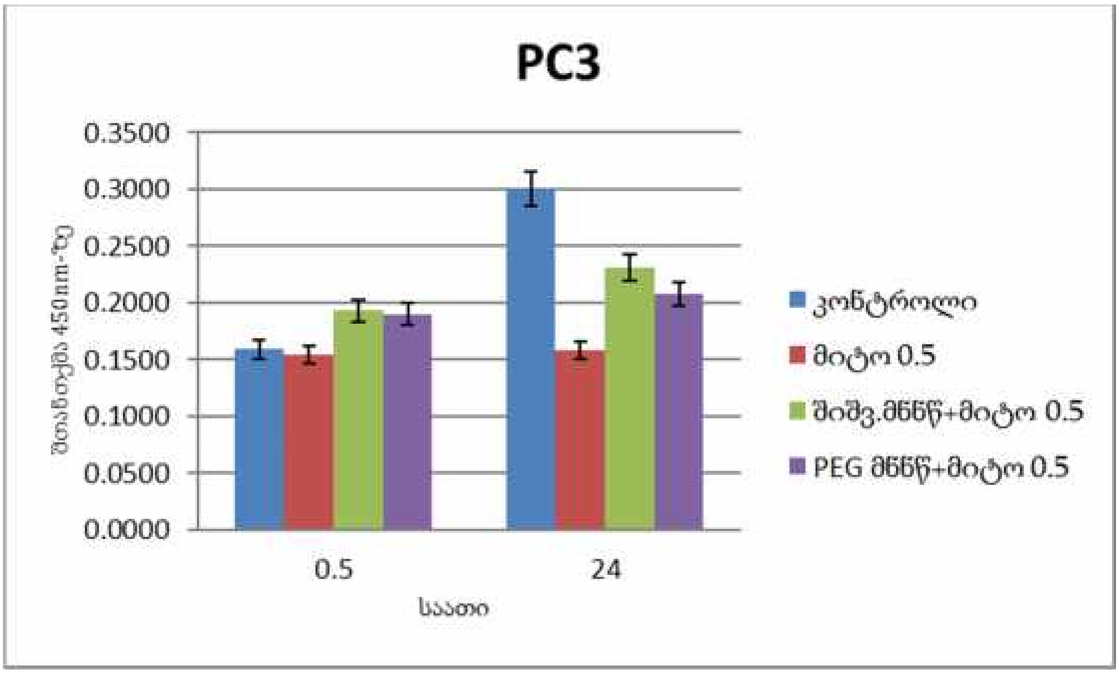
რაც შეეხება 0,5 სთ-იან გაზომვას აღინიშნება კონტროლისთვის (არანამკურნალები) დამახასიათებელი მაღალი შთანთქმა PEG მნნწ+MITX-ის

კომბინაციასთან შედარებით, ხოლო 24 სთ-იანმა გაზომვამ აჩვენა ჩვენთვის მოულდონელი შედეგი, რაც ვფიქრობთ შემდგომი კვლევებით აიხსნება. აღნიშნული დიაგრამებიდან შეიძლება დავასკვნათ, რომ MITX-ის ორივე კონცენტრაცია (0,5mM და 1,5 mM) მსგავს შედეგეს იძლევა და მათი კომბინაცია მნნწ-ებთან ზრდის ქიმიოთერაპიული საშუალების ეფექტს.

5.3. PC-3 უჯრედებზე მნნწ-ების მოქმედების *in vitro* შედეგები

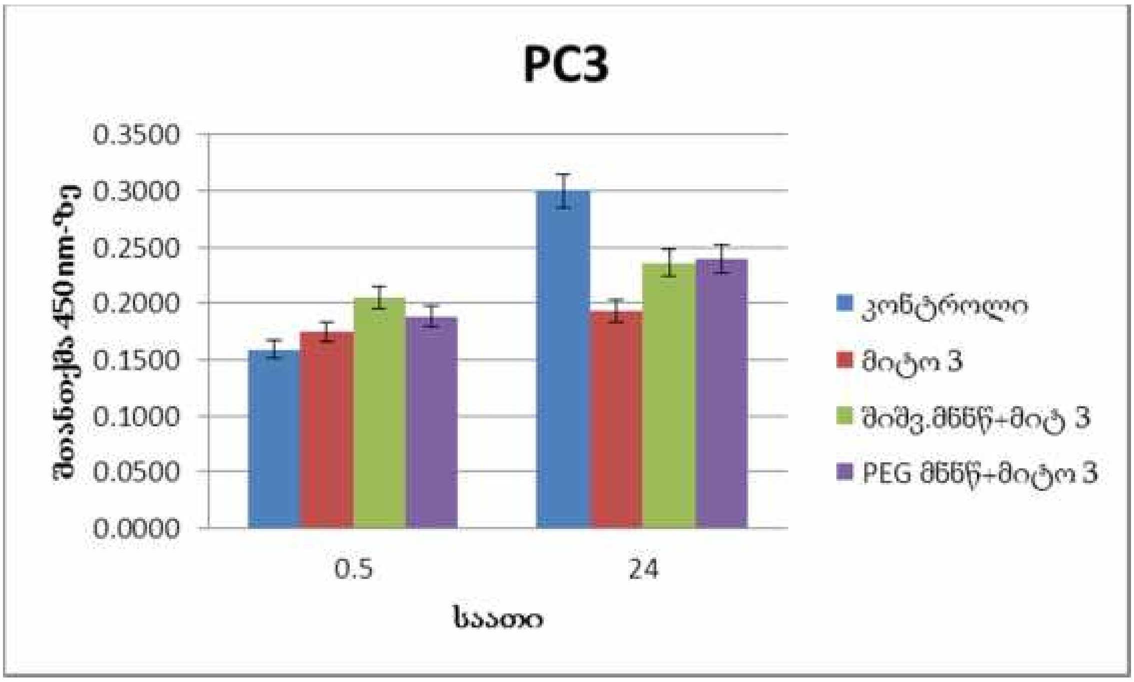
ჩვენი კვლევის მიზნის მისაღწევად ინ ვიტრო კვლევები შესრულდა როგორც თაგვის პროსტატის სიმსივნის RM-1 უჯრედების კულტურის ხაზზე, ასევე ადამიანის პროსტატის სიმსივნის PC3 უჯრედულ ხაზზე. ადამიანის პროსტატის ხაზის PC-3 უჯრედებზე PEG მნნწ -სა და MITX-ის ეფექტის (მონო- და კომბინირებული) შეფასება RM-1 უჯრედების მსგავსად მოვახდინეთ MTT ტესტის გამოყენებით.

როგორც მე-4 და მე-5 დიაგრამებზე ჩანს გამოვყავით ოთხი ძირითადი საკვლევი ჯგუფი კონტროლი (1), მხოლოდ მიტოქსანტრონი (2), შიშველი და PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ებისა და MITX-ის კომბინაციით (3,4). გამოვიყენეთ MITX-ის ორი კონცენტრაციით: 0,5mM და 1,5 mM. შესაბამისად მივიღეთ 8 საკვლევი ქვეჯგუფი.



<u>დიაგრამა N4.</u> შიშველი და PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ებისა და MITX(**0.5mM**) კომბინაციის გავლენა PC-3 უჯრედებზე.

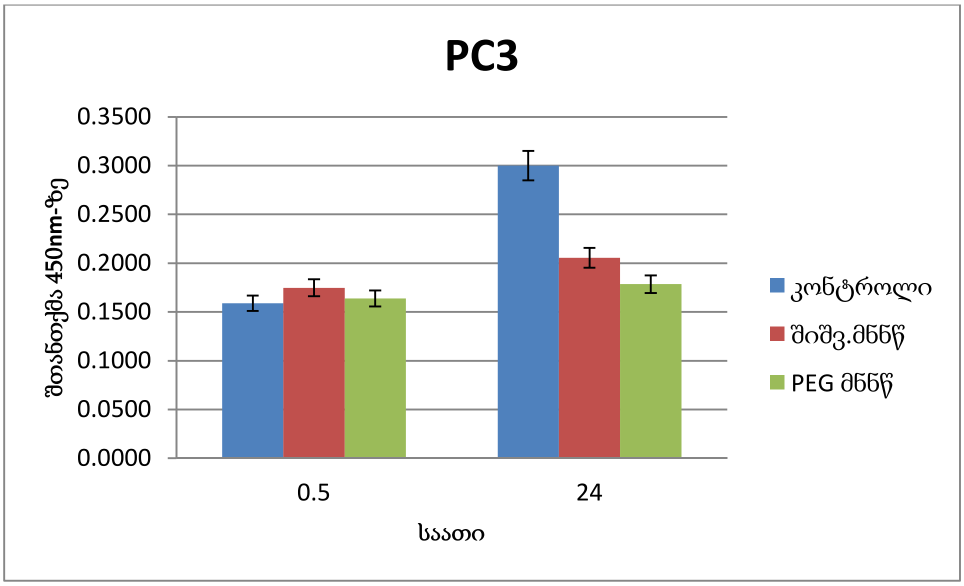
როგორც მიღებული შედეგებიდან ჩანს, MITX-ის ორივე დოზამ ერთნაირი სურათი გამოავლინა როგორც მონოთერაპიული, ასევე კომბინაციური მკურნალობისას. რაც შეეხება შიშველი და PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ების თერაპიულ ეფექტს, ის განისაზღვრა MITX-თან შეწყვილებით და ორივე ფორმა ეფექტური აღმოჩნდა, მათ მოქმედებასა და ეფექტურობას შორის სარწმუნო განსხვავება არ დაფიქსირდა. როგორც მე-4 და მე-5 დიაგრამებიდან ჩანს ყველა საკვლევ ჯგუფში თერაპიული ეფექტი გამოვლინდა როგორც 24 სთ-იან ინტერვალში კონტროლთან შედარებით, რაც იმას ნიშნავს, რომ სიმსივნის უჯრედების გამრავლება შეფერხდა.



<u>დიაგრამა N5.</u> შიშველი და PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ებისა და MITX (1.5mM) კომბინაციის გავლენა PC-3 უჯრედებზე

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგებიდან PC-3 უჯრედებზე კვლევისას მიტოქსანტრონთან შედარებით ნანონაწილაკებით კომბინაციური თერაპიის ნაკლებეფექტურობა ჯერჯერობით აუხსნელია. მიღებული შედეგები სარწმუნოა და ვფიქრობთ კვლევების შემდგომი გაგრძელება და გაფართოება მოგვცემს ამ შედეგების ახსნის საფუძველს.

როგორც ჩანს ადამიანის და თაგვის პროოსტატის სიმსივნურ ხაზებს შორის სახეობათაშორისი სხვაობა განსაზღვრავს თერაპიული ეფექტის განსხვავებას, რაც გასათვალისწინებელია შედეგების ინტერპრეტაციისას, დასკვნების გამოტანისას და შემდგომი კვლევების დაგეგმვისას.



<u>დიაგრამა N6.</u> PEG მნნწ-ისა და შიშველი მნნწ-ის მონოთერაპიის შედარებითი ეფექტი PC-3 უჯრედებზე

რაც შეეხება PC3 უჯრედების კვლევის შედეგებს (დიაგრამა N6), სადაც ვსწავლობდით PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ების თერაპიულ ეფექტურობას შიშველ მნნწ-ებთან შედარებით, ადამიანის პროსტატის სიმსივნის PC3 უჯრედულ ხაზზე, გამოვლინდა, რომ 24 საათიან ინტერვალში PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ების მოქმედება უფრო მაღალ ეფექტურია, ვიდრე ვიდრე შიშველი მნნწ-ების მოქმედება (დიაგრამა #6).

6. დასკვნები:

- თაგვის პროსტატის სიმსივნის *in vivo* მოდელში დადასტურდა მაგნიტური ნანონაწილაკების დადებითი თერაპიული ეფექტი, როგორც მონო, ასევე კომბინირებული თერაპიისას (ქიმიოთერაპიული პრეპარატებთან კომბინაციაში ზრდის ამ უკანასკნელთა ეფექტურობას).

- თაგვის პროსტატის სიმსივნის RM-1 უჯრედული კულტურის კვლევისას შიშველი და PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ების თერაპიული ეფექტის შეფასებით გამოვლინდა PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ების მკვეთრად გამოხატული ეფექტურობა შიშველ ნაწილაკებთან შედარებით როგორც მონო, ასევე მიტოქსანტრონთან კომბინაციისას.

- ადამიანის პროსტატის სიმსივნის PC-3 უჯრედული კულტურის კვლევისას შიშველი და PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ების მონოთერაპიული ეფექტის შეფასებით გამოვლინდა PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ების მკვეთრად გამოხატული ეფექტურობა შიშველ მნნწ-ებთან შედარებით, ეს განსხვავება არ იყო ნანახი კომბინირებული თერაპიისას.

- მანიტური ნანონაწილაკები ზრდის ქიმიოთერაპიული პრეპარატის ეფექტურობას კომბინაციაში, რაც განსაკუთრებით გამოვლინდა PEG-ით შემოგარსული მნნწ-ისა და MITX-ის კომბინაციისას თაგვის პროსტატის სიმსივნის ხაზის უჯრედებზე .

7. პრაქტიკული რეკომენდაცია:

ჩვენს მიერ მიღებული შედეგები კიდევ ერთხელ ადასტურებს კომბინირებული თერაპიის (მნნწ+ქიმიოთერაპიული საშუალება) უპირატესობას მონოთერაპიასთან (მხოლოდ ქიმიოთერაპია) შედარებით და რეკომენდაციის საფუძველს იძლევა მნნწ-ებით ონკოთერაპიის გასაუმჯობესებლად (ქიმიოთერაპიული საშუალების დოზის შემცირება, შესაბამისად გვერდითი ეფექტების შემცირება).

8. გამოყენებული ლიტერატურა

[1] Pala K, Serwotka A, Jeleń F, Jakimowicz P, Otlewski J.Tumor-specific hyperthermia with aptamer-tagged superparamagnetic nanoparticles. Int J Nanomedicine. 2014;9:67-76.

[2] J.H. Ryu, et al. Adv. Drug Del. Rev., 64 (13) (2012), p. 1447

[3] American Cancer Society. (2006). Prostate cancer risk factors. Retrieved May 22, 2007 http://www.webmd.com/prostate-cancer/guide/prostate-cancer-risk-factors

[4] Zelefsky MJ, Eastham JA, Sartor AO. Castration-Resistant Prostate Cancer. In: Vincent T. DeVita J, Lawrence TS, Rosenberg SA, eds. DeVita, Hellman, and Rosenberg's Cancer: Principles & Practice of Oncology, 9e. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011.

[5] https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4630860/

[6] Lu et al., Clin Exp Pharmacol 2013, 3:4 http://dx.doi.org/10.4172/2161-1459.1000134

[7] http://www.encyclopedia.com/medicine/drugs/pharmacology/mitoxantrone

[8] Mody VV, Cox A, Shah S, Singh A, Bevins W, Parihar H. Magnetic nanoparticle drug delivery systems for targeting tumor. Appl Nanosci. 2014;4:385-92.

[9] Abolfazl Akbarzadeh,1 Mohamad Samiei,2 and Soodabeh Davarancorresponding author1,2,3 Magnetic nanoparticles: preparation, physical properties, and applications in biomedicine.Published online 2012 Feb 21.

[10] Bruce A. Chabner, MD, Harvard Medical School;Massachusetts General Hospital Cancer Center ; Elizabeth Chabner Thompson, MD, MPH, New York Group for Plastic Surgery. Combination Cancer Therapy

[11] Bahls, C., and M. Fogarty. 2002. Reining in a killer disease. The Scientist 16[11]:16. An outline of several approaches to controlling cancer.

[12]http://csbl.bmb.uga.edu/mirrors/JLU/DragonStar2017/download/introduction-to-cancer-biology.pdf

[13] Nunn, Laura Silverstein; Silverstein, Alvin; Silverstein, Virginia B. (2006). *Cancer*. Brookfield, Conn: Twenty-First Century Books. pp. 11–12.

[14] Anand P, Kunnumakkara AB, Kunnumakara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Tharakan ST, Lai OS, Sung B, Aggarwal BB (September 2008).

[15] "Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes". *Pharmaceutical Research*. **25** (9): 2097–116

[16] Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, et al. EAU guidelines on prostate cancer. part 1: screening, diagnosis, and local treatment with curative intent-update 2013. Eur Urol 2014 Jan;65(1):124-37. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24207135

[17] Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, et al. EAU Guidelines on Prostate Cancer. Part II: Treatment of Advanced, Relapsing, and Castration-Resistant Prostate Cancer. Eur Urol 2014 Feb;65(2):467-79. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24321502

[18]http://urology.ucsf.edu/sites/urology.ucsf.edu/files/uploaded-files/attachments/prostate_cancer_its_treatment.pdf

[19] Leitzmann MF, Rohrmann S. Risk factors for the onset of prostatic cancer: age, location, and behavioral correlates. Clin Epidemiol 2012;4:1-11. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22291478

[20] Epstein JI, Herawi M. Prostate needle biopsies containing prostatic intraepithelial neoplasia or atypical foci suspicious for carcinoma: implications for patient care. J Urol 2006 Mar;175 (3 Pt 1):820-34.

[21] NCCN Clinical Practice Guidelines in OncologyTM: Prostate Cancer Early Detection, V.2.2012, p 15. www.nccn.org

[22] Gerber DE. Targeted therapies: a new generation of cancer treatments. Am Fam Physician 2008; 77: 311-9.

[23] Fracasso PM, Westervelt P, Fears CL, Rosen DM, Zuhowski EG, Cazenave LA, et al. Phase I study of paclitaxel in combination with a multidrug resistance modulator, PSC 833 (Valspodar), in refractory malignancies. J Clin Oncol 2000; 18: 1124-34.

[24] Bolla M, Van Poppel H, Van Cangh P, Vekemans K, Rigatti P, De Reijke T, et al. Does post-operative radiotherapy after radical prostatectomy improve progression-free survival in pT3 N0 prostate cancer? American Society of Clinical Oncology Annual meeting proceedings 2004;23:382.

[25] Centers for Disease Control and Prevention. CDC health alert: multiple states investigating a large outbreak of E. coliO157:H7 infections. Atlanta: US Department of Health and Human Services; 2006.

[26] MODERN BIOTECHNOLOGICAL APPROACHES IN INSECT RESEARCH Int. Res. J. of Science & Engineering, 2013, Vol. 1(3):

[27] Guillon S, Tremouillaux-Guiller J, Pati PK, Rideau M and Gantet P. Harnessing the potential of hairy roots: dawn of a new era. Trendsin Biotechnology 2006; 24: 403–409.

[28] .Yousaf SA, Salamat A (2008) Effect of heating environment on fluorine doped tin oxide (f: SnO/sub 2/) thin films for solar cell applications. Faculty of Engineering & Technology. Islamabad

[29] Wang Z, Ruan J, Cui D (2009) Advances and prospect of nanotechnology in stem cells. Nanoscale Res Lett 4: 593605.

[30] Preface / Science and Technology of Advanced Materials 7 (2006) 395–396

[31] Alhaj N, Abdullah R, Ibrahim S, Bustamam A. Tamoxifen drug loading solid lipid nanoparticles prepared by hot high pressure homogenization techniques. Am J Pharmacol Toxicol2008;3(3):219.

[32] Neda Naseri, Hadi Valizadeh, Parvin Zakeri ,Milani 2015

http://journals.tbzmed.ac.ir/APB/Manuscript/APB-5-305.pdf

[33] Souto EB, Muller RH. Lipid nanoparticles: Effect on

bioavailability and pharmacokinetic changes. Handb Exp Pharmacol2010(197):115-41. doi: 10.1007/978-3-642-00477-3_4

[34] M.Arruebo,R.Fernandez-Pacheco, M. R. Ibarra, and J.Santamarıa, “Magnetic nanoparticles fordrug delivery,”NanoToday, vol. 2, pp. 22–32, 2007.

[35] 9. Zhang J, Misra RDK. Magnetic drug-targeting carrier encapsulatedwith thermosensitive smart polymer: Core-shell nanoparticle carrier and drug release response. Acta Biomat 2007;3:838850

[36] 3. Lu AH, Salabas EL, Schuth F. Magnetic nanoparticles: synthesis,protection, functionalization, and application. Angew Chem Int Ed Engl 2007;46:1222-1244

[37] http://prhsj.rcm.upr.edu/index.php/prhsj/article/view/365/243

[38] Hydrogen Peroxide Electroreduction at a Silver-Nanoparticle Array: Investigating Nanoparticle Size and Coverage Effects Fallyn W. Campbell, Stephen R. Belding, Ronan Baron, Lei Xiao and Richard G. Compton*Department of Chemistry, Physical and Theoretical Chemistry Laboratory, University of Oxford, South Parks Road, Oxford OX1 3QZ, United KingdomJ. Phys. Chem. C, 2009, 113 (21), pp 9053–9062

[39] Bourges JL, Gautier SE, Delie F, et al. Ocular drug delivery targeting the retina and retinal pigment epithelium using polylactide nanoparticles. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2003;44:3562–9.

[40] Allen TM. Liposomes. Opportunities in drug delivery. Drugs. 1997;54(Suppl 4):8–14.

http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/prp2.188/full

[41] Gabizon A, Goren D, Cohen R, Barenholz Y. Development of liposomal anthracyclines: from basics to clinical applications. J Control Release. 1998;53:275–279. doi: 10.1016/S0168-3659(97)00261-7.

[42] Pop C, Timmer J, Sperandio S, Salvesen GS. Theapoptosome activates caspase-9dimerization Mol Cell 2006;22:269-75.

[43] Pop C, Salvesen GS. Human caspases: Activation,specificity and regulation. J Biol Chem2009;doi:10.1074/jbc.R800084200.

[44] EMD Serono, Inc. Novantrone (mitoxantrone) for injection concentrate [product monograph]. Available at: http://www.novantrone.com/assets/pdf/novantrone_prescribing_info.pdf. Accessed October 20, 2007.