



مکانیسم های انتقال نانوذرات به تومورهای جامد

کیمیا دانائی فر ، سید محسن دهنوی*

دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران

چکیده

نانوذرات می‌توانند برای تشخیص و درمان سرطان استفاده شوند با این وجود تحویل آنها به تومورها چالش برانگیز است. یکی از مشکلات اصلی، عدم درک مکانیسم‌های تحویل نانوذرات به تومورهای جامد می‌باشد. جهت حل این مشکل دو مکانیسم تحویل نانوذرات به تومورهای جامد و تأثیر آنها بر طراحی نانوذرات برای کاربردهای سرطان مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از این مکانیسم های پیشنهادی، اثر نفوذ و نگهداری (EPR) است که بیان می‌کند، تحویل نانوذرات به تومورها از طریق شکاف‌های بافت اندوتلیال، ناکارآمد است. جهت حل این مشکل مکانیسم جایگزینی به نام اثر حمل و نگهداری فعال (ATR) نیز پیشنهاد شده است؛ که ورود، نگهداری و خروج فعال نانوذرات را به عنوان مکانیسم‌های پایه‌ای تحویل نانوذرات به تومورهای جامد پیشنهاد می‌دهد. این مکانیسم می‌تواند در تحویل نانوذرات به تومورها و افزایش کارایی درمان سرطان بهبود ایجاد کند. این مقاله مروری نشان می‌دهد که مکانیسم‌های تحویل نانوذرات به تومورهای جامد برای پیشرفت نانوپزشکی در تعیین راه‌های بهبود سرطان امری حیاتی است.

واژه های کلیدی: نانوذرات، سرطان، تحویل نانوذرات، مکانیسم تحویل، اثر نفوذ و نگهداری، اثر انتقال فعال، شکاف‌های بافت اندوتلیال، عروق لنفاوی، نانوپزشکی.

ایمیل نویسنده مسئول: mo_dehnavi@sbu.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳/۰۷/۰۹

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۲۸

۱- مقدمه

در مقیاس نانو را دارد که منجر به خواص فیزیکیوشیمیایی منحصر به فرد این مواد و امکان استفاده از آنها در تکنیک‌های هدف‌گیری نانو برای تشخیص و درمان سرطان می‌شود [۱]. نانوذرات موادی در مقیاس نانومتری هستند و توسط تنظیم ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی آنها و اتصال یا کپسوله کردن آنها با مواد، مهندسی شده‌اند. تجزیه و تحلیل پارامترهای فیزیکیوشیمیایی نانوذرات، مدل‌های تومور و انواع سرطان، نشان داد که میانگین ۰/۷ درصد از دوز تزریقی نانوذرات به تومور رسیده است، این نشان می‌دهد که در مدل موش تنها ۷ نانوذره از ۱۰۰۰ نانوذره وارد تومور جامد شده‌اند. در این بررسی از میانه به جای میانگین

سرطان، بیماری پیچیده و چالش برانگیزی است که همواره نیاز به راهکارهای نوآورانه برای درمان دارد [۱]. تومورهای جامد، از تجمع سلول‌های غیرطبیعی و تکثیر بی‌رویه آنها در اعضا، بافت‌ها و استخوان‌ها ایجاد می‌شوند. تومورهای جامد به دو دسته خوش‌خیم (غیرسرطانی) و بدخیم (سرطانی) تقسیم می‌شوند. تومورهای بدخیم، توانایی پراکندگی و انتشار به سایر نقاط بدن را دارند که باعث پیشرفت بیماری می‌شود [۲ و ۱]. در این راستا، فناوری نانو به عنوان رویکردی مؤثر برای تشخیص و درمان سرطان ظهور کرده است. این فناوری توانایی مهندسی و دستکاری مواد

حسابی برای توصیف کارایی تحویل استفاده شده است زیرا تنوع مجموعه داده‌ها بالا بوده و میانه کمتر تحت تأثیر مقادیر شدید قرار می‌گیرد. تحلیل داده‌ها نشان می‌دهد چند روند قابل مشاهده است: اول، نانوذرات تشکیل شده از مواد غیر آلی به طور معمول کارایی تحویل بالاتری نسبت به نانوذراتی که از مواد آلی ساخته شده‌اند، دارند. دوم، ذرات با قطر هیدرودینامیک^۱ کوچکتر از ۱۰۰ نانومتر به طور معمول کارایی تحویل بالاتری نشان می‌دهند. سوم، کارایی تحویل نانوذرات با پتانسیل زتا^۲ خنثی، که از ۱۰- تا ۱۰+ میلی‌وات تعریف شده است، به طور معمول بیشتر از کارایی تحویل نانوذرات با پتانسیل‌های مثبت تر یا منفی تر می‌باشد. چهارم، استراتژی‌های هدفمند فعال^۳ به طور معمول از استراتژی‌های هدفمند غیرفعال^۴ بهتر عمل می‌کنند. پنجم، نانوذرات نواری به طور معمول کارایی تحویل بالاتری نسبت به نانوذرات کروی، صفحه‌ای یا تخت و سایر اشکال دارند. در نهایت، مدل‌های تومور ارتوتوپیک^۵ به طور معمول کارایی تحویل بالاتری نسبت به مدل‌های تومور هتروتوپیک^۶ نشان می‌دهند [۲۳]. علل احتمالی کارایی تحویل ضعیف از دیدگاه‌های زیست‌شناسی تومور (انتقال بین سلولی، اثر نفوذ و نگهداری، و انتقال نانوذرات از طریق بستره تومور) و همچنین اعضای رقیب در کارایی تحویل (سیستم‌های فاگوسیت تک هسته ای^۷ و سیستم‌های کلیوی) بررسی شده است. مهندسی حامل‌های نانوذرات از دهه ۱۹۶۰ با سنتز لیپیدهای کروی دولایه به نام لیپوزوم‌ها آغاز شد. در آن زمان، این نانوذرات اندازه‌های گوناگون داشتند و تنها می‌توانستند یون‌ها و مولکول‌های کوچک را کپسوله کنند^۸ [۴۵]. برخلاف این نانوذرات اولیه، نانوذرات امروزی با اندازه و خصوصیات متنوع، می‌توانند با فلزات، پلیمرها، پروتئین‌ها و سایر مواد به اندازه دقیقی سنتز شوند و با لیگاندها^۹ کپسوله شوند [۶-۸] حتی می‌توانند بارهایی مانند

دنا [۹-۱۱]، رنا [۱۲-۱۴]، پروتئین [۱۷-۱۵] و مولکول‌های کوچک [۲۰-۱۸] را کپسوله کنند و برنامه‌ریزی شوند تا بار خود را در پاسخ به محرک‌های زیستی و خارجی مختلف از جمله پی‌اچ^{۱۰} [۲۲ و ۲۱]، دما [۲۴-۲۳]، میدان‌های وابسته به نیروی مغناطیسی برق [۲۶ و ۲۵] تخلیه کنند تا به سلول‌های هدف خاصی در بدن برسند؛ تعداد کل نانوذرات تحویل داده شده به تومور، مجموع تعداد نانوذرات موجود در رگ خونی تومور و ریزمحیط می‌باشد. دوز دارو با ضرب تعداد نانوذرات موجود در تومور در مقدار دارو به ازای هر نانوذره محاسبه می‌شود [۲۷]. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که پدیده (EPR) برای بسیاری از محققان به «دروازه چشمگیری» تبدیل شده است. این پدیده به حاملان دارو این امکان را می‌دهد تا بدون سمیت بالای درمان‌های متداول، وارد تومور شده و آن را مورد هدف قرار دهند [۲۸]. وقتی نانوذرات توسط اثر EPR به محل تومور هدایت می‌شوند، شروع به تولید ترکیبات ضد رگ‌زایی از پوسته فسفولیپیدی بیرونی و همچنین مواد شیمی‌درمانی از داخل نانوذرات پلیمری خود می‌کنند. این فرایند در پاسخ به کم‌اکسیژنی موضعی در محیط تومور صورت می‌گیرد [۱]. مکانیسم‌های تحویل دارو با نانوذرات بر پایه پلیمرهای زیست‌تجزیه‌پذیر طبیعی، مطلوب و مؤثر واقع شده‌اند. پس از طراحی شیمیایی سیستم نانوذرات، آن‌ها به مدل‌های حیوانی یا بیماران سرطانی تزریق می‌شوند و در داخل تومور تجمع می‌یابند. در محیط تومور، نانوذرات می‌توانند سیگنال‌های تصویربرداری برای تشخیص سرطان تولید کنند یا محموله دارویی را برای درمان موضعی آزاد کنند. ریزمحیط تومور^{۱۱} انسانی به طور قابل ملاحظه‌ای غیر طبیعی است و موانع متعددی برای تحویل نانوذرات ایجاد می‌کند که نمی‌توان به تنهایی با اثر EPR بر آنها غلبه کرد. در تومورها، پرفیوژن^{۱۲} (یعنی عرضه خون) کم است، جریان خون به طور نابرابر توزیع می‌شود، نفوذپذیری عروق ناهمگن و ریزمحیط اغلب متراکم است، همه اینها برای محدود کردن عرضه، نفوذ و توزیع نانوذرات در تومورها اثرگذار هستند [۲۹]. اثر نفوذ و

¹ Hydrodynamic diameter

² Zeta potential

³ Active targeting strategies

⁴ Passive targeting strategies

⁵ Orthotopic tumor models

⁶ Heterotopic tumor models

⁷ Mononuclear phagocyte system

⁸ Encapsulation

⁹ Ligand

¹⁰ pH

¹¹ Microenvironment

¹² Perfusion

است تشکیل شده است. SMANCS دارای جرمی بین ۱۵-۱۸ کیلو دالتون است و در حلال‌های لیپوفیلی^{۱۸} مانند لیپودول حل می‌شود. SMANCS-lipiodol به رگ کبدی خرگوش‌های دارای تومور کبدی تزریق شد و پس از ۲۴ ساعت مشاهده شد که دارای غلظت ۱۲.۲ و ۳.۹ میکروگرم در میلی لیتر به ترتیب در تومور و بافت سالم کبد می‌باشد؛ که نشان دهنده تجمع دارو در تومور است. پس از ۷ روز، غلظت SMANCS، ۰/۶ و ۰/۴ میکروگرم بر میلی لیتر در تومور و بافت کبد سالم اندازه گیری شد؛ که نشان دهنده نگهداری ترجیحی^{۱۹} تومور است [۲].

در سال ۱۹۸۶، مفهوم تجمع و نگهداری بهبود یافته به تمام درشت مولکول‌ها تعمیم یافت (شکل ۱) [۳۳]. درشت مولکول‌های استفاده شده، پروتئین‌های نشاندار شده با جرم بین ۱۵ تا ۷۰ کیلو دالتون بودند. هنگامی که این درشت مولکول‌ها به موش‌های بیمار سارکوما-۱۸۰^{۲۰} تزریق شدند، نشان داده شد که زمانی بین ۱۹ تا ۶۸ ساعت طول می‌کشد تا نسبت تومور به خون برابر با ۵ شود، که شواهدی برای تجمع و نگهداری ترجیحی درشت مولکول‌ها در تومورها را فراهم کرد. این تجمع درشت مولکول‌ها در تومور همچنین پس از تزریق وریدی رنگ آبی اوانز، مشاهده شد که در بافت تومور برای طولانی مدت نگهداری می‌شود و بازیابی لنفاوی کمی از درشت مولکول‌ها از بافت تومور داشت. زمانی که این کمپلکس در محیط آزمایشی آماده شد؛ به تومور و بافت نرمال تزریق شد، بافت نرمال آن را تا ۴۸ ساعت کامل پاک کرد در حالی که بافت تومور بیش از ۳ روز آن را نگه داشت. تفاوت بین پاک‌سازی از تومور و بافت نرمال بر اساس تفاوت در دفع لنف از دو بافت بود. یافته اخیر ارزش بالقوه‌ای در درمان تومور و تشخیص دارد. این تجمع و نگهداری ترجیحی در نتیجه عروق خونی نفوذپذیر و سیستم لنفاوی ناکارآمد در تومور بود اما شواهد مکانیکی مستقیم برای این ادعاها ارائه نشده است. دو مطالعه منتشر شده در همان سال این تجمع و نگهداری ترجیحی درشت مولکول‌ها را حمایت کردند. مطالعه اول نشان داد که

نگهداری افزایش یافته^{۱۳} (EPR) یکی از مکانیزم‌های مهم در این حوزه است که نشان می‌دهد نانوذرات به صورت فعال از طریق شکاف‌های بافت اندوتلیال وارد تومور شده و در آنجا نگهداری می‌شوند [۳۲-۳۰] که نانوذرات باید با اندازه‌های کوچکتر از اندازه شکاف‌های بافت اندوتلیال برای تجمع در داخل تومور طراحی شوند و زمان کافی برای این تجمع وجود داشته باشد [۳۳]. با این حال، استفاده از این مکانیزم برای طراحی نانوذرات سرطان یکسری محدودیت‌هایی دارد و به تنهایی کافی نیست به طوری که تنها ۱۵ نانودارو سرطان برای استفاده بالینی در سراسر جهان تأیید شده است [۳۴]. به همین دلیل مکانیسم جایگزینی^{۱۴} به نام اثر انتقال فعال^{۱۵} (ATR) معرفی شده است که می‌تواند بهبود بخش تحویل نانوذرات به تومورها باشد. این مکانیسم جدید نیازمند تحقیقات و آزمایش‌های بالینی بیشتر است تا بتواند به عنوان یک روش موثر برای تحویل نانوذرات به تومورها مورد استفاده قرار گیرد [۳۵-۳۸].

۱-۱- انباشت درشت مولکول‌ها^{۱۶} و نانوذرات توسط تومورها

مطالعات از دهه ۱۹۰۰ نشان دادند که تومورها توانایی تجمع مواد مختلف از جمله پروتئین‌ها، کلئیدهای اکسید آهن و مواد بلوری را دارند. این تجمع توموری توسط محققان تأیید شد و تمایل تومورها به تجمع ذرات تزریقی را نشان داد [۳۹-۴۰]. از دهه ۱۹۸۰ میلادی به بعد، ایده استفاده از این پدیده برای تحویل نانوذرات به تومورها برای کاربردهای درمانی و تشخیصی مطرح شد. در سال ۱۹۸۴، برای اولین بار مفهوم EPR برای توضیح تجمع و نگهداری SMANCS-lipiodol در یک تومور بیان شدند . SMANCS-lipiodol^{۱۷} یک پروتئین-پلیمر است که از پروتئین نئوکارزینواستاتین (NCS) که به سطح یک کوپلیمر از استایرن و اسید مالئیک (SMA) متصل شده

¹³ The enhanced permeability and retention

¹⁴ Alternative mechanism

¹⁵ Ataxia Telangiectasia and Rad3-related

¹⁶ Macromolecules

¹⁷ SMANCS-lipiodol یک نوع ترکیب دارویی است که در درمان برخی از تومورهای جامد، به ویژه سرطان استفاده می‌شود.

¹⁸ Lipophilic

¹⁹ Preferred retention

²⁰ Sarcoma-180

اساسی زیربنای این رفتار است. درک این مکانیسم ها برای استفاده بهینه پزشکی در بیماران مبتلا به سرطان بسیار حائز اهمیت است.

۲- اثر EPR

اثر EPR برای اولین بار در سال ۱۹۸۷ ابداع شد [۷]. این اثر بیان می کند که نانوذرات از طریق شکاف های بین سلول های اندوتلیال^{۲۹} عروق خونی وارد تومور می شوند و در داخل تومور باقی می مانند. زیرا مسیر خروج توسط عروق لنفاوی ناکارآمد مسدود شده است (شکل ۲). جدول ۱ نشانگر نانوذراتی است که اثر EPR را نشان می دهند.

مکانیسم ورود نانوذرات به تومورهای جامد با اثر EPR

بسته به مدل تومور مورد استفاده و/یا بدخیمی تومور مورد نظر، و اینکه تا چه حد برای خروج و نفوذ اجازه داده می شود، یافتن و اتصال سلول های سرطانی کم و بیش آسان است. اگر پوشش بافت اندوتلیال خیلی نشتی نداشته باشد، به طوری که پریسیت ها^{۳۰} یا سلول های عضلانی صاف زیادی وجود داشته باشد که رگ های خونی تومور را می پوشاند و تراکم سلول های تومور بالا باشد و همچنین ماتریکس متراکمی مانع نفوذ شود و/یا اگر فشار مایع بینابینی بالایی وجود داشته باشد، این احتمال وجود دارد که هدف گیری فعال به سلول های سرطانی نسبت به هدف گیری غیرفعال به هیچ سودی منجر نشود. در مورد تومورهای با رشد سریع در مدل های حیوانی، که در آن تعدادی از این پدیده های فیزیولوژیکی وجود ندارند، سلول های سرطانی ممکن است مستقیماً در پشت سلول های اندوتلیال تومور قرار گیرند. نانوداروهای اصلاح شده با لیگاند به اولین گیرنده هایی که با آن ها برخورد می کنند متصل می شوند و بنابراین به عمق تومور نفوذ نمی کنند. از نظر تئوری، تنها مزیتی که نانوداروهای هدفمند فعال نسبت به فرمولاسیون های

نفوذپذیری عروقی دکستران^{۲۱} ۱۵۰ کیلو دالتون در خرگوش های بیمار تومور VX2 هشت برابر بیشتر از بافت سالم با استفاده از داده های فارماکوکینتیک^{۲۲} و مدل سازی ریاضی بود. مطالعه دوم نشان داد که تجمع پروتئین های متصل به رنگ در رت های بیمار کارسینوما^{۲۳} واکر ۲۵۶، هفت برابر بیشتر از بافت های سالم با استفاده از تصویربرداری زنده فلورسانت^{۲۴} بود. بنابراین، به جای مولکول های کوچک، درشت مولکول ها برای درمان سرطان پیشنهاد شد [۲۰ و ۴۱].

در دهه ۱۹۹۰، مقالات متعددی در ارتباط با استفاده از نانوذرات برای درمان سرطان منتشر شد [۴۲ و ۴۳]. نانوذرات در ابتدا به عنوان کلوئیدهای پلیمری و تجمعات پروتئینی شناخته می شدند، اما این تعریف از آن دهه به بعد گسترش یافت و شامل لیپوزوم ها، کلوئیدهای معدنی، درشت مولکول ها و سایر مواد در مقیاس نانومتری شد. هنگامی که این نانوذرات به حیوانات حامل تومور تزریق شد، نشان داده شد که رفتاری مشابه با درشت مولکول ها از خود نشان دادند. در یک مثال، نشان داده شد که فولرین های^{۲۵} کونژوگه با پلی اتیلن گلیکول^{۲۶} در موش های حاوی فیبروسارکوما^{۲۷} بیشتر از پوست و ماهیچه سالم تجمع می یابند و سپس حداقل به مدت ۲ روز در تومور باقی می ماندند [۴۴]. در مثالی دیگر، نشان داده شد که نانوذرات پلی لاکتیک اسید^{۲۸}-پلی اتیلن گلیکول در موش های حامل تومور EMT-6 بیشتر از پوست سالم تجمع می یابند و سپس به مدت ۱ هفته در تومور نگهداری می شوند [۴۵]. این مطالعات تایید می کنند که نانوذرات در تومور دارای تجمع و نگهداری بهتر نسبت به بافت های سالم هستند. [۴۶]

به دنبال شواهد طی ۱۰۰ سال گذشته، واضح است که درشت مولکول ها و نانوذرات در تومورها تجمع یافته و حفظ می شوند. آنچه همچنان مورد بحث است مکانیسم های

²¹ Vascular permeability of dextran

²² Pharmacokinetics

²³ Carcinoma

²⁴ In vivo fluorescent imaging

²⁵ Fullerenes

²⁶ Polyethylene glycol

²⁷ Fibrosarcoma

²⁸ Polylactic acid

²⁹ Endothelial cells

³⁰ Pericytes



به دنبال مجموعه ای از انتشارات بین سال های ۱۹۸۷ و ۱۹۹۸ پیشنهاد شد (شکل ۱).

اولین بار فرض شد که نفوذپذیری عروق خونی تومور توسط شکاف بین سلول های اندوتلیال تومور ایجاد می شود، و این فرضیه بعداً با استفاده از لیپوزوم های ۹۰ نانومتری آزمایش شد [۶۲-۶۳]. این لیپوزوم ها برای تجمع در تومورهای LS174T در موش نشان داده شدند، و این تجمع به شکاف های بافت اندوتلیال نسبت داده شد زیرا لیپوزوم ها را نمی توان به راحتی فرو برد و سپس توسط وزیکول ها جابه جا کرد یا آزادانه از طریق کانال های وزیکولی یا اندامک های وزیکولواکوئولار [۳۲] حرکت داد. این آزمایش تجمع لیپوزوم با لیپوزوم های بزرگتر و در تومورهای متعدد تکرار شد [۶۴-۶۶]. لیپوزوم ها به بزرگی ۳۸۰ نانومتر در تومورهای HCaI LS174T, ST-8, و ST-12 MCaIV در موش ها نگه داشته شدند، در حالی که لیپوزوم های بزرگتر از ۷۸۰ نانومتر از اکثر تومورها حذف شدند. این نتیجه نشان می دهد که شکاف بافت اندوتلیال ۳۸۰-۷۸۰ نانومتر عرض داشتند. سازه های دایره ای (فرض می شود لیپوزوم) شکاف های بافت اندوتلیال، با میکروسکوپ الکترونی مشاهده شدند که بیشتر از این مکانیسم

ورودی پشتیبانی می کند. این مطالعات به این نتیجه رسید که مکانیسم ورود نانوذرات به تومور از طریق شکاف های بین سلول های اندوتلیال انجام شد (اثر EPR)

شکل ۱. جدول زمانی مکانیسم های تحویل نانوذرات به تومورهای جامد.

جدول زمانی مطالعات کلیدی را برجسته می کند. فرمولاسیون اثر نفوذ و احتباس افزایش یافته (EPR) (نقاط قرمز) و اثر انتقال و نگهداری فعال (ATR) (نقاط زرد)

برای تحویل نانوذرات به تومورهای جامد. مقالات مروری کلیدی و چشم اندازهها (نقاط آبی) [۳۳ و ۳۸-۳۵ و ۴۱ و ۲۸ و ۶۱-۴۸]

هدفمند غیرفعال دارند، این است که ممکن است برای مدت زمان کمی در تومورها باقی بمانند، زیرا اتصال آنها به سلول های سرطانی و/یا جذب آنها از ورود مجدد و سریع آنها به گردش خون سیستمیک^{۳۱} جلوگیری می کند. اثر EPR نشان می دهد که نانوذرات از طریق شکاف بین سلول های اندوتلیال وارد تومور می شوند [۳۲-۲۹]؛ و برای دسترسی به عروق خونی تومور و خروج از آن ها میبایست به مدت طولانی در جریان خون حضور داشته باشند؛ با این حال، پس از تزریق داخل وریدی و ورود به جریان خون، نانوذرات بلافاصله توسط پروتئین های اپسونین پوشیده می شوند، که منجر به پاکسازی سریع آن ها توسط سیستم فاگوسیتی تک هسته ای می شود [۴۷]. این مکانیسم ورود،

^{۳۱} (Systemic Circulation) به سیستم رگ های خونی و جریان خون در بدن اشاره دارد که وظیفه آن تأمین اکسیژن و مواد مغذی به بافت ها و اندام ها و همچنین جمع آوری دی اکسید کربن و مواد زائد از آن هاست. این گردش خون بخشی از سیستم قلبی-عروقی است که شامل دو قسمت اصلی: گردش خون سیستمیک و گردش خون ریوی می باشد

مکانیسم خروج نانوذرات از تومورهای جامد با اثر EPR

اثر EPR نشان می‌دهد که خروج نانوذرات از تومورهای جامد دارای اختلال [۶۷]، ناکارآمدی [۶۸-۶۹] یا عیب [۷۰] است، زیرا مجرای رگ های لنفاوی تومور فرو ریخته و برای انتقال نانوذرات بسیار کوچک است [۳۲].

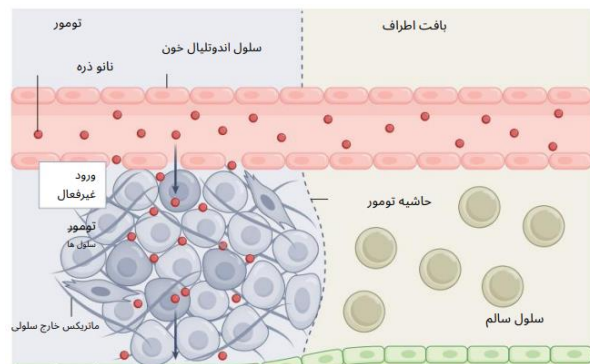
این مکانیسم خروج نانوذرات بین سالهای ۱۹۹۷ و ۲۰۰۲ پیشنهاد شد (شکل ۱). با استفاده از مدل های ریاضی برای محاسبه نیروهای مکانیکی در اسفروئید های تومور [۵۰]، نشان داده شد که سلول های سرطانی نیروهای مکانیکی قوی برای فروپاشی عروق لنفاوی از خود نشان می‌دهند. در مطالعه تجربی بعدی، نشان داده شد که فریتین^{۳۴} (ردیاب لنفاوی) در هنگام تزریق به درم بالادست تومور، عروق لنفاوی داخل تومورهای FSaII موش را نشان نمی‌دهد [۴۶]. از آنجایی که فریتین از طریق سیستم لنفاوی منتقل می‌شود و احتمالاً به سیستم لنفاوی تومور جریان می‌یابد، تصور می‌شود که فقدان فریتین در تومور نشان دهنده سیستم لنفاوی غیرعملکردی در دسترس است. سپس این آزمایش فریتین با تزریق مستقیم به تومورهای B16F10 تکرار شد [۵۲]. ایمونوهیستوشیمی^{۳۵} این تومورها نشان داد که عروق لنفاوی به صورت رگ های خطی بدون حفره مشاهده می‌شوند که منجر به این نتیجه می‌شود که رگ ها "جمع شده" هستند. فریتین با این عروق لنفاوی تومور هم مکان نیست، که این امر نشانگر ناکارآمدی عروق هستند. اگرچه رابطه بین فروپاشی عروق^{۳۶} و اختلال عملکرد نشان داده نشد و این مطالعات شامل نانوذرات نمی‌شد، این یافته‌ها به این ایده منجر شد که رگ های لنفاوی جمع شده یا فشرده شده باعث تخلیه ناکارآمد لنف^{۳۷} می‌شوند که جریان مایع را مسدود می‌کند و مانع خروج نانوذرات می‌شود. این ایده مبنایی را برای بخش "تخلیه لنفاوی ضعیف" اثر EPR فراهم کرد [۳۱-۳۲].

شکل ۲. مکانیسم تحویل نانوذرات EPR

مکانیسم افزایش نفوذ و حفظ (EPR) فرض می‌کند که نانوذرات از طریق شکاف های دیواره عروق خونی تومور وارد می‌شوند. هنگامی که نانوذرات داخل تومور هستند، اثر EPR نشان می‌دهد که نانوذرات به دلیل فروپاشی عروق لنفاوی تومور قادر به خروج نیستند. ترکیبی از ورود نانوذرات و عدم خروج آنها باعث حفظ نانوذرات در داخل تومور می‌شود [۲].

مکانیسم حفظ نانوذرات در تومورهای جامد با اثر EPR

با توجه به اثر EPR، احتباس نانوذرات در تومورهای جامد ناشی از "نفوذپذیری افزایش یافته" و اختلال در خروج نانوذرات است (شکل ۱). [۲۶ و ۳۰ و ۳۱] این مفهوم برای اولین بار در سال ۱۹۸۶ ارائه شد و نتیجه چهار ویژگی عروق بود: بیش رگزایی^{۳۸}، تقویت نفوذپذیری عروقی ناشی از یک عامل نفوذپذیر، و حداقل بازیابی درشت مولکول ها از طریق عروق خونی و لنفاوی، نفوذپذیری افزایش یافته: درشت مولکول ها در تومورها به دلیل افزایش نفوذپذیری عروق خونی تجمع می‌یابند. احتباس در تومورها: کمپلکس رنگی آلبومین^{۳۹} در مقایسه با بافت های طبیعی مدت بیشتری در بافت های تومور باقی می‌ماند. بازیابی محدود: تخلیه لنفاوی درشت مولکول ها از بافت های تومور حداقل است. ارزش درمانی: این یافته ها می‌تواند برای درمان و تشخیص سرطان درشت مولکولی ارزشمند باشد [۳۳]. این



قابل توجهی تغییر نمی‌کند. بنابراین، نیاز به بررسی مکانیسم‌های اضافی یا جایگزین برای بهبود تحویل نانوذرات به تومورها و افزایش اثربخشی درمانی وجود دارد. تلاش‌های زیادی برای کنترل زمان و مکان آزادسازی داروها از سیستم‌های تحویل درون بدن صورت گرفته است تجزیه و تحلیل اخیر با استفاده از یک رویکرد مدل‌سازی مبتنی بر فیزیولوژیک به نتیجه‌گیری مشابهی رسید و نشان داد که میانگین $0.76/0$ و $0.35/0$ درصد از دوز تزریقی طرح‌های مختلف نانوذرات به ترتیب در ۲۴ و ۱۶۸ ساعت پس از تجویز به تومور تحویل داده شد [۲۹ و ۵۲]. پیامد پایین‌رفتن تأثیر تحویل $0.7/0$ این است که مقدار کوچکتری از نانوذرات برای سلول‌های سرطان در به عنوان مثال، تنها $0.014/0$ از نانوذرات طلا به سلول‌های سرطان SKOV3 در موش‌ها تحویل داده می‌شود (شکل ۱)، که نشانگر عدم تجمع آن‌ها در تومورها یا سلول‌های سرطانی با غلظت‌های بالا می‌باشد. علاوه بر این، اگر فشار مایعات بین‌سلولی به‌عنوان تابعی از تنش جامد تومور متوقف شود، یا جریان مایعات در رگ‌های کوچک کاهش یابد، تحویل دارو به‌صورت EPR (تحویل وابسته به تخلیه مایعات بین‌سلولی) ممکن است شکست بخورد [۷۱]. این مطالعات نشان می‌دهند که مکانیسم‌های اضافی یا جایگزین اثر EPR باید مورد بررسی و استفاده قرار گیرند [۵۳].

۳- اثر ATR

اثر انتقال فعال و نگهداری (ATR) در سال ۲۰۲۳ پیشنهاد شد.

این اثر بیان می‌کند که نانوذرات از طریق فرایندهای فعال از طریق سلول‌های اندوتلیال وارد تومور می‌شوند و به دلیل تعامل با اجزای سلولی و غیرسلولی در تومور نگهداری می‌شوند و از طریق عروق لنفاوی داخل و اطراف تومور خارج می‌شوند (شکل ۳ و جدول ۱) [۲ و ۵۴].

مکانیسم ورود نانوذرات به تومورهای جامد با اثر

ATR

اثر ATR نشان می‌دهد که مکانیسم غالب ورود نانوذرات به تومورهای جامد از طریق یک فرآیند انتقال فعال است.

ویژگی‌های عروقی به عنوان بخشی از علائم سرطان در نظر گرفته می‌شود. افزایش عروق تومور و افزایش نفوذپذیری عروقی، نانوذرات بیشتری را قادر می‌سازد تا به تومور رسیده و وارد آن شوند. زمانی که نانوذرات وارد تومور می‌شوند و خروج محدودی دارند، در داخل تومور ننگه داشته می‌شوند. این مکانیسم نگهداری نانوذرات در تومورهای جامد بخش "نگهداری افزایش یافته" از اثر EPR شد [۶۲-۴۹].

موفقیت‌ها و محدودیت‌های اثر EPR

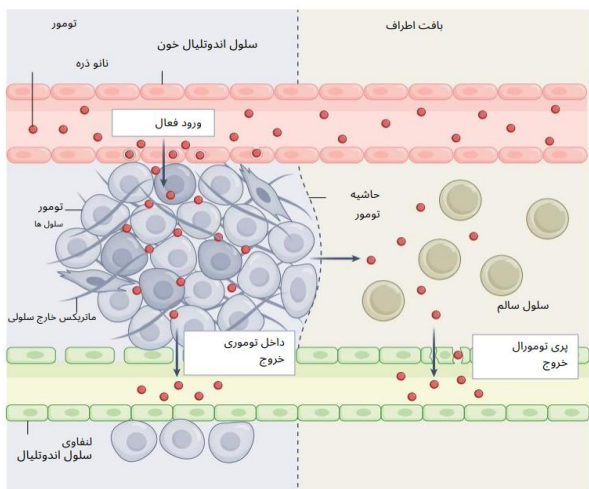
در اواخر دهه ۱۹۹۰ و اوایل دهه ۲۰۰۰، اثر EPR و تأثیر آن بر نانویزشکی در سرطان در مقالات بسیاری مورد تحسین قرار گرفت (شکل ۱) [۲].

توجه توسعه نانوذرات برای درمان بهتر سرطان یا تشخیص، توسط دانشگاه و صنعت مورد استفاده قرار گرفت. با وجود این موفقیت‌ها، بیشتر نانوداروها دچار مشکل تأیید برای استفاده بالینی هستند زیرا کارایی کافی در انسان‌ها ایفا نمی‌کنند. یکی از علل این کارایی محدود ممکن است تنوع تومور یا فیزیولوژی متغیر بین مدل‌های تومور حیوانات و انسان باشد. تنوع تومور و اثر آن بر تجمع نانوذرات در تومور در چندین مطالعه توصیف شده است. به عنوان مثال، پس از تزریق نانوذرات، با استفاده از یک تکنیک تصویربرداری از موش، نشان داده شده است که تجمع نانوذرات که تابع زمان و دوز نانوذرات می‌باشند؛ متغیر است. همچنین نشان داده شده است که تجمع نانوذرات وابسته به توزیع متغیر عروق خونی و ماکروفاژها در مدل‌های موش‌های زئوگرافت U87⁴⁰ با استفاده از یک رویکرد مدل‌سازی محاسباتی است [۵۱]. مطالعات نشان می‌دهد که ناهمگونی تومور بر تجمع نانوذرات تأثیر می‌گذارد و برای استفاده از نانوذرات در درمان بیماران، نیاز به تعریف و طبقه‌بندی دقیق ناهمگنی تومور می‌باشد. اما تحویل نانوذرات به تومورها ممکن است با چالش‌هایی روبرو شود که نیازمند مکانیسم‌های تحویل صحیح و بهینه است. تحلیل‌های انجام شده نشان می‌دهد که تنها $0.7/0$ از دوز نانوذرات^{۴۱} به تومورها تحویل داده می‌شوند و این درصد حتی با طراحی جدید نانوذرات به طور

⁴⁰ U87 xenograft

⁴¹ Nanoparticle dose

وزیکولها می‌توانند نانوذرات طلا-آلبومین و نانوذرات هیبرید^{۴۶} لیپوزوم-سیلیکا را با اندازه ۶۵ نانومتر استفاده کنند. علاوه بر این، سلول‌های تومور مهاجر و نوتروفیل‌ها می‌توانند منافذی برای ورود نانوذرات به تومور ایجاد کنند. به نظر می‌رسد این فرایندهای انتقال فعال، مکانیسم‌های اصلی ورود نانوذرات به تومور باشند و لیپوزوم‌ها از حاملین پرکاربرد در درمان سرطان هستند. با این حال، هنوز محدودیت‌هایی در مورد کارایی تحویل لیپوزوم‌ها به تومورها و تجمع خارج از هدف وجود دارد که نیازمند بررسی و درک بهتری از مکانیسم‌های خروج نانوذرات در انواع مختلف تومورها و عروق طبیعی است [۵۰، ۶۰، ۶۱، ۷۲].



انتقال فعال و غیرفعال وارد تومور می‌شوند. مکانیسم‌های انتقال فعال شامل ترنس سیتوزیس توسط سلول‌های اندوتلیال، حمل‌ونقل نانوذرات، وزیکول‌ها و ارگانل‌های واکوئولار و سلول‌های مهاجر است. این مکانیسم‌های انتقال فعال بر انتقال غیرفعال غالب هستند که شامل شکاف‌ها و ریزشکاف‌ها می‌شود. پس از ورود به تومور، نانوذرات به دلیل تعامل با اجزای سلولی و غیرسلولی تومور نگهداری می‌شوند. این اجزا تومور نانوذرات را جذب می‌کنند و بنابراین انتقال آن‌ها از محل ورود به محل خروج دنیای نانو را کند می‌کند. نانوذرات با انتقال به بیرون از تومور در

فرآیندهای فعال نیاز به انرژی ورودی (از سلول‌ها) برای انتقال نانوذرات از رگ خونی به تومور دارند. اندازه ذرات همچنین بر مکانیسم‌های درونی سازی سلولی یعنی بیگانه خواری^{۴۲}، قطره خواری^{۴۳}، درون بری^{۴۴} با واسطه حفره غشایی و کلاترین یا مستقل از حفره غشایی و کلاترین، تأثیر می‌گذارد. این فرآیندهای فعال با صرف انرژی، نیاز به تغییر ساختار سلول اندوتلیال دارند و شامل مکانیسم‌هایی مانند ترنس سیتوزیس^{۴۵}، اندامک‌های وزیکولو-واکوتلی و اثرات سلولی در حال مهاجرت می‌باشند [۵۸]. در یک مطالعه شواهدی برای انتقال فعال به عنوان مکانیسم اصلی ورود نانوذرات طلا به تومورها با اندازه‌های ۱۵ نانومتر، ۵۰ نانومتر و ۱۰۰ نانومتر (شکل ۱) ثبت شد [۵۸ و ۲]. با استفاده از مدل موش نشان داده شد که انتقال غیر فعال نانوذرات به تومورها تنها ۲۵-۳٪ از تجمع تومور را تشکیل می‌دهد که به طراحی نانوذرات بستگی دارد. میکروسکوپ الکترونی و مدل‌سازی ریاضی این نتیجه را تایید کردند و نشان دادند که چگالی شکاف ۵۰۰ میلی‌مترمربع، تنها می‌تواند ۲/۵٪ از تجمع نانوذرات را توجیه کند. عدم وجود شکاف بین سلول‌های اندوتلیال عروق خونی تومورهای انسانی، نشانگر فرایندهای فعال میانجی تجمع نانوذرات در تومور هستند. نانوذرات طلا در داخل وزیکول‌های سلول‌های اندوتلیال خون یافت شدند، که نشانگر مکانیسم‌های ترنس سیتوزیس (مسیر انتقال فعال اصلی) برای نانوذرات هستند. با استفاده از رونوشتام، نشان داده شد که ترنس سیتوزیس نانوذرات توسط یک زیرگروه از سلول‌های اندوتلیال تومور، به نام "سلول‌های اندوتلیال انتقال نانوذرات"، تنظیم می‌شود [۵۹].

علاوه بر نانوذرات طلا، مطالعات نشان می‌دهد که مکانیسم ترنس سیتوزیس با استفاده از لیپوزوم‌های کاتیونی پوشش داده شده با پلی اتیلن گلیکول و کربن کلوئیدی می‌تواند برای انتقال نانوذرات به داخل تومورها مورد استفاده قرار گیرد. همچنین، ترنس سیتوزیس می‌تواند توسط وزیکول‌های واکوولار نیز انجام شود به طوری که این

42 Phagocytosis
43 Pinocytosis
44 endocytosis
45 transcytosis

حاشیه تومور و تجمع در بافت‌های اطراف تومور به عروق لنفاوی اطراف تومور می‌رسند [۲].

جدول ۱: شواهدی از مقایسه اثر EPR و ATR بر اساس منابع گوناگون

نانوذرات به کار برده میشوند، به‌عنوان مثال، تصویربرداری میکروسکوپ الکترونی برای نشان دادن انتقال نانوذرات از اگر شواهد مستقیمی برای یک مکانیسم خاص ارائه شود

منابع	کاربرد نانوذرات	مکانیسم بیولوژیکی	فرایند انتقال	مکانیسم تحویل
۶۵	لیپوزوم ها	شکاف ها	ورود	EPR
۷۳ و ۷۴	پلی لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید، پلی اتیلن گلیکول، پلی آکرلیک اسید، لیپوزوم‌ها، نانوحامل‌های میسلی	عروق لنفاوی ناکارآمد	خروج	
۷۳ و ۷۴	پوشش دهی سطح نانوذرات با پلی اتیلن گلیکول یا پلی ساکاریدها، داروی Doxil و Caelyx و لیپوزوم پاکلیتاکسل، لیپوزوم ایرینوتکان	فقدان زهکشی لنفاوی کارآمد	نگهداری	ATR
۷۵-۷۷ و ۷۵	نانوذرات طلا، کربن کلوتیدی، لیپوزوم های کاتیونی، آبراکسان	ترنس سیتوزیس	ورود	
۷۸ و ۶۱	نانوذرات طلا، نانوذرات سیلیکا با پوشش لیپیدی	اندامک وزیکول واکوئولار		
۷۹	لیپوزوم ها	اثر سلولی در حال مهاجرت		
۸۱ و ۸۰	نانوذرات طلا، نانوذرات سیلیس، لیپوزوم ها، دندریمر های پلی (آمیدوآمین)	عروق لنفاوی داخل توموری	خروج	
۵۳	نانوذرات طلا، نانو ذرات سیلیس، لیپوزوم ها	عروق لنفاوی اطراف تومور		
۸۲-۸۴ و ۸۵-۸۷	نقاط کوانتومی، نانولوله های کربنی تک جداره، کلوتید های m99Tc، دندریمر های پلی (آمیدوآمین)، میسل های پلیمری TMR-PDPA، لیپوزوم ها	سایر عروق لنفاوی		
۵۳	نانوذرات طلا	رگ خونی		
۵۳ و ۵۲ و ۸۸-۹۰	نانو ذرات سیلیس، نانوذرات پلی استایرن، نانوذرات طلا، میسل ها پلیمری، نانوذرات PLGA	سلولی	نگهداری	
۵۲ و ۵۳	نانوذرات طلا، نانوذرات پلی استایرن	غیرسلولی		

طریق شکاف‌های بین سلولهای اندوتلیال یا تصویربرداری فلورسانس از هم‌محلی‌سازی نانوذرات با نشانگر ترنس سیتوزیس. نانوذراتی که برای القای یک مکانیسم خاص مهندسی شده‌اند، مستثنی هستند. مولکول‌های بزرگ مانند

دکستران^{۴۷} از مطالعات حذف می‌شوند، زیرا به‌طور سنتی نانوذرات در نظر گرفته نمی‌شوند.

در مطالعاتی که بر روی عروق لنفاوی ناکارآمد انجام شد، از نانوذرات استفاده نشد. احتمالاً افزایش احتیاس، ناشی از افزایش ورود نانوذرات به تومور و خروج محدود آنها است؛ اما شواهد مستقیمی برای این ادعا ارائه نشده است. مکانیسم‌های سلولی نگهداری نانوذرات شامل داربست‌های ماتریکس خارج سلولی است [۲].

مکانیسم خروج نانوذرات از تومورهای جامد با اثر

ATR

اثر ATR نشان می‌دهد که مکانیسم اصلی خروج نانوذرات از تومورهای جامد از طریق عروق لنفاوی درون تومور و اطراف تومور است. نانوذرات از طریق سلول‌های اندوتلیال، شکاف‌ها یا مکانیسم‌های دیگر وارد تومور می‌شوند، اما چگونگی خروج آن‌ها نامشخص است. الگوی فعلی بیان می‌کند که عروق لنفاوی تومور فرو ریخته و خروج نانوذرات را مختل می‌کنند و منجر به افزایش نگهداری می‌شوند. در اینجا نشان می‌دهیم که نانوذرات چگونه از طریق عروق لنفاوی درون یا اطراف تومور خارج می‌شوند. مکانیسم اصلی خروج لنفاوی به اندازه نانوذرات بستگی دارد. نانوذراتی که از طریق عروق لنفاوی از تومور خارج می‌شوند، به سیستم خونی باز می‌گردند، که این امکان را برای آن‌ها فراهم می‌کند تا مجدداً گردش کنند و در یک گذر دیگر با تومور تعامل کنند. نتایج به دست آمده امکان تعریف یک مکانیسم تحویل نانوذرات به تومورهای جامد را فراهم می‌کند که جایگزین اثر نفوذ و نگهداری افزایش یافته است. این اثر شواهدی برای این مکانیسم در یک مطالعه در مورد خروج

نانوذرات طلا به اندازه ۱۵ نانومتر، ۵۰ نانومتر و ۱۰۰ نانومتر، لیپوزوم‌های ۱۰۰ نانومتر و نانوذرات سیلیکا به اندازه ۱۰۰ نانومتر از تومورهای جامد B16F10، T1 و ۴ MMTV-PyVT ارائه داد (شکل ۱) [۶۳]. ۴۵٪ از مقدار کل نانوذرات طلا به اندازه ۱۵ نانومتر پس از ۵ روز از تومور خارج می‌شوند. میکروسکوپ الکترونی با وضوح بالا نشان داد که عروق لنفاوی در تومور فروپاشیده نیستند و اندازه حفره آن‌ها بیشتر از ۲۸۶ نانومتر است که برای انتقال نانوذرات کافی است.

با استفاده از تصویربرداری سه بعدی، بافت شناسی و میکروسکوپ الکترونی، نشان داده شد که نانوذرات از طریق عروق لنفاوی درون توموری و حاشیه توموری از تومور خارج می‌شوند. نانوذرات با انتقال از حاشیه تومور و تجمع در بافت‌های اطراف تومور به عروق لنفاوی اطراف توموری می‌رسند و توسط آن‌ها تخلیه می‌شوند. مکانیسم اصلی خروج از طریق عروق لنفاوی به اندازه نانوذرات وابسته است. نانوذرات بزرگتر از ۳۰ نانومتر از طریق عروق لنفاوی درون توموری خارج می‌شوند، در حالی که نانوذرات کوچکتر از طریق عروق لنفاوی اطراف تومور خارج می‌شوند. همچنین نانوذرات از طریق عروق خونی از تومور خارج می‌شوند اما این مسیر نسبت به عروق لنفاوی یک مشارکت‌کننده کمتر است. مدل‌سازی ریاضی نشان می‌دهد که عروق لنفاوی ۶/۴٪ از دوز تزریق شده برای هر گرم نانوذرات به اندازه ۱۵ نانومتر را حذف می‌کنند؛ در حالی که عروق خونی تنها ۰/۳٪ از دوز نانوذرات تزریق شده برای هر گرم را در طی ۵ روز پس از تزریق ویریدی حذف می‌کنند. تصویربرداری از مدل موش نشان داد که نانوذرات طلا به اندازه ۱۵ نانومتر، نانوذرات سیلیکا به اندازه ۱۰۰ نانومتر و لیپوزوم‌های ۱۰۰ نانومتر پس از خروج از تومور از طریق سیستم لنفاوی حمل می‌شوند. سیستم لنفاوی شامل چندین غدد و عروق لنفاوی جمع‌آوری شده است که با عروق خونی در مجرای قفسه سینه یا مجراهای لنفاوی راست ارتباط دارند. نانوذرات طلا، سیلیس و لیپوزوم از مجرای قفسه سینه عبور می‌کنند، دوباره وارد عروق خونی می‌شوند و در دنیای نانو

سراسر بدن گردش می‌کنند. این مکانیسم خروج لنفاوی ممکن است برای سایر نانومواد هم صدق کند. نقاط

^{۴۷} دکستران یک پلی‌ساکارید است که از گلوکز تشکیل شده و توسط برخی میکروب‌ها، به ویژه باکتری‌ها و قارچ‌ها، تولید می‌شود. این ترکیب دارای خاصیت‌های منحصر به فردی است و به‌طور گسترده در علوم پزشکی و بیوتکنولوژی مورد استفاده قرار می‌گیرد.



می‌شوند [۸۳]. به طور مشابه، نانوکلوئیدهای $Tc99m$ رادیواکتیو در بیماران مبتلا به سرطان پستان تجمع می‌یابند [۸۴]. در اینجا، نقاط کوانتومی و نانوکلوئیدها برای تعیین حوضچه دفع لنفاوی تومور برای شناسایی گره‌های لنفاوی نخاعی برای جراحی استفاده شدند. علاوه بر این، نانومواد پلیمری و نانولوله‌های کربن^{۵۳} پس از تزریق مستقیم به تومورهای موش، در غدد لنفاوی تجمع می‌یابند. این مشاهدات مکانیسم خروج نانوذرات از طریق مکانیسم‌های لنفاوی را تأیید می‌کنند [۲ و ۸۰ و ۸۱ و ۸۷-۸۵].

مکانیسم نگهداری نانوذرات در تومورهای جامد با اثر ATR

اثر ATR بیان می‌کند که نانوذرات به دلیل تعاملات آن‌ها با اجزای سلولی و غیرسلولی، در داخل تومور نگهداری می‌شوند. این تعاملات باعث محبوس شدن نانوذرات در داخل تومور می‌شوند (برای مثال، جذب سلولی یا اتصال غیر اختصاصی) در حالی که از محل ورود به محل خروج حرکت می‌کنند. گزارش‌های اولیه از این اثر محبوس شدن در آغاز قرن بیستم ارائه شد. به عنوان مثال، نتایج اولیه نشان دادند که نگهداری رنگ‌هایی مانند آبی اوانز و آبی تریپان در حاشیه تومور و در داخل سلول‌های استرومال ممکن است به دلیل اتصال یا جذب توسط سلول‌های تومور باشد [۴۰]. کنگو قرمز و سدیم یودید در مناطق نکروزی تومورها مستقر شده‌اند، که نشان می‌دهد آن‌ها به اجزای غیرسلولی تومور متصل می‌شوند [۳۹]. بنابراین، نگهداری ذرات تزریقی ممکن است ناشی از اتصال به اجزای سلولی و غیرسلولی تومور باشد.

کاهش اندازه ذرات، حلالیت و زیست‌دسترس‌پذیری داروها را بهبود می‌بخشد. انتقال نانوذرات به تومور از طریق مکانیسم‌های مبتنی بر سلول انجام می‌شود و به نظر می‌رسد اندازه نانو ذرات تعیین‌کننده این است که آیا نانوذره به ریز محیط تومور نفوذ می‌کند یا توسط ماکروفاژهای مرتبط با تومور (TAMs) جذب می‌شود. نانوذرات کوچکتر (> ۳۰ نانومتر) احتمال بیشتری برای نفوذ به ریز محیط

کوانتومی^{۴۸} که به دو تومور نمونه تزریق شده‌اند سریعاً به گره‌های لنفاوی^{۴۹} نگهبان مهاجرت می‌کنند [۸۰]. نقاط کوانتومی پوشش داده شده با پلی اتیلن گلیکول دارای گروه‌های کربوکسیل ترمینال^{۵۰}، آمینو یا متوکسیل همگی به طور مشابه از تومور به گره‌های لنفاوی اطراف مهاجرت کردند. عبور از تومور از طریق عروق لنفاوی به گره‌های مجاور به صورت پویا از طریق پوست قابل مشاهده بود؛ حداقل دو گره به طور معمول قابل تعریف بودند. تصویربرداری در طول نکروپسی^{۵۱} تأیید کرد که نقاط کوانتومی به سیستم لنفاوی محدود شده‌اند و نشان داد که به راحتی می‌توان گره‌های لنفاوی نگهبان را برای پاتولوژی^{۵۲} برچسب‌گذاری کرد. بررسی گره‌های نگهبان شناسایی شده توسط محلول‌شدن نقطه کوانتومی نشان داد که حداقل برخی از آن‌ها شامل مراکز توموری پخش شده بودند. به عنوان مثال، نقاط کوانتومی پس از تزریق مستقیم به تومورهای نقاط کوانتومی پوشش داده شده با پلی اتیلن گلیکول دارای گروه‌های کربوکسیل ترمینال، آمینو یا متوکسیل همگی به طور مشابه از تومور به گره‌های لنفاوی اطراف مهاجرت کردند. عبور از تومور از طریق عروق لنفاوی به گره‌های مجاور به صورت پویا از طریق پوست قابل مشاهده بود؛ حداقل دو گره به طور معمول قابل تعریف بودند. تصویربرداری در طول نکروپسی تأیید کرد که نقاط کوانتومی به سیستم لنفاوی محدود شده‌اند و نشان داد که به راحتی می‌توان گره‌های لنفاوی نگهبان را برای پاتولوژی برچسب‌گذاری کرد. بررسی گره‌های نگهبان شناسایی شده توسط محلول‌شدن نقطه کوانتومی نشان داد که حداقل برخی از آن‌ها شامل مراکز توموری پخش شده بودند. به عنوان مثال، نقاط کوانتومی پس از تزریق مستقیم به تومورهای موش، در گره‌های لنفاوی تخلیه تومور جمع

⁴⁸ Quantum dots

⁴⁹ Lymph Nodes

⁵⁰ Terminal carboxyl groups

⁵¹ نکروپسی (Necropsy) به بررسی و کالبدشکافی بدن یک موجود مرده، معمولاً حیوانات، اشاره دارد. این فرآیند به منظور تحقیق و تعیین علت مرگ، تشخیص بیماری‌ها، یا بررسی تغییرات پاتولوژیک انجام می‌شود.

⁵² Pathology

⁵³ Carbon nanotubes

کلاژن IV، پرلکان^{۵۵} و نیدوژن^{۵۶}) و پروتئین‌های ماتریکس بین‌سلولی به ویژه کلاژن I و III است. این پروتئین‌ها به صورت یک شبکه ترتیب داده شده‌اند و فاصله آن‌ها ۲۰ تا ۱۶۰ نانومتر است [۹۳ و ۹۴]، این هیدروژل‌ها پشتیبانی مکانیکی را فراهم می‌کنند که سلول‌ها را از محیط خود حافظت کنند و انواع مختلف بافت را جدا می‌کنند. بسته به عملکرد خاص هیدروژل خارج سلولی، انواع سلول‌های مختلف سیستم‌های ماتریکس خارج سلولی (ECM) متناسب با ترکیبات متمایز از بیوپلیمرها را توسعه داده اند [۸۲]. بسته به مدل و تکنیک اندازه‌گیری، مدل‌های هیدروژل درون‌محیطی و میکروسکوپی درون‌زنده بر روی تومورها نشان دادند که نانوذرات به عنوان یک تابع از اندازه و بار نانوذرات در این شبکه محبوس می‌شوند. به عنوان مثال، افزایش اندازه نانوذرات پلی استایرن بدون تغییر از ۲۰ نانومتر به ۱۰۰ نانومتر، جابجایی پخش را در حدود دو برابر در بافت سرطان پستان زئوگرافت MDA-MB-231 از موش‌ها کاهش می‌دهد. نانوذرات پلی استایرن با پتانسیل سطحی بالای ۷/۴ میلی‌وات و پایین‌تر از ۳۸- میلی‌وات در مدل‌های هیدروژل، محبوس می‌شوند؛ در نتیجه اجزای ماتریکس تومور می‌توانند نانوذرات را در داخل تومور محبوس کنند، بنابراین، نگهداری نانوذرات ناشی از تعاملات مولکولی و فیزیکی بین نانوذرات و اجزای سلولی و غیرسلولی یک تومور است. مقدار نانوذرات نگهداری شده برابر با مقدار نانوذرات محبوس شده در هر جزء تومور است و همچنین معادل مقدار نانوذراتی است که وارد تومور شده‌اند منهای مقداری که خارج شده‌اند. با این حال، برای روشن شدن الگوها و رفتار نگهداری نانوذرات در تومورهای جامد میبایست تعاملات مولکولی و سینتیک (مدت زمان تعامل) بین نانوذرات و ساختار سلولی و غیرسلولی تومور مورد بررسی قرار گیرند [۲].

۴. مقایسه اثر EPR و اثر ATR

اثر EPR و اثر ATR در چهار پارامتر کلیدی متفاوت هستند: توضیح تحویل نانوذرات به تومورهای جامد، استفاده

تومور دارند. نانوذرات بزرگ‌تر بیشتر تمایل به جذب توسط TAMها دارند. میلر و همکاران و دای و همکاران نشان دادند که TAMها بعد از عبور از رگ‌های خونی تومور، بسیاری از نانوذرات را جذب می‌کنند [۲۷]. ماکروفاژهای اطراف عروقی، نانوذرات خارج‌شده را جدا می‌کنند و آنها را به سراسر تومور منتقل می‌کنند. انواع مختلف سلول‌ها نانوذرات را در داخل تومور حبس می‌کنند، مانند ماکروفاژهای مرتبط با تومور (TAMs)⁵⁴، لنفوسیت‌ها، مونوسیت‌ها و سلول‌های سرطانی TAMs. به عنوان بزرگترین مشارکت‌کننده در نظر گرفته می‌شوند، [۸۹ و ۹۰] یک مطالعه اعلام کرده است که TAMs بیش از ۸۰٪ از جذب نانوذرات سیلیکا ۵۰۰ نانومتری پس از ۴ روز در موش‌های دارای تومور OVCAR8 را تشکیل می‌دهند [۷۵] و مطالعه دیگر ۸۵٪ از جذب نانوذرات طلا ۵۵ نانومتری در موش‌های دارای تومور SKOV3 را گزارش کرده است [۸۱]. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات بر جذب توسط TAMs تأثیر دارد. برای نمونه، اندازه ۵۰ نانومتر برای جذب نانوذرات طلا توسط TAM مناسب است. افزایش چگالی پلی اتیلن گلیکول بر روی سطوح نانوذرات طلا باعث کاهش، تا ده برابری جذب ماکروفاژها می‌شود. TAMs می‌توانند نانوذرات سیلیکا ۵۰۰ نانومتری، پلی لاکتیک-کو-گلیکولیک اسید ۳۹۸ نانومتری و نانوذرات پلی استایرن ۷۹۸ نانومتری را برای بیش از ۴ روز در مدل‌های موش مبتلا به سرطان تخمدان جذب می‌کنند. همچنین، سلول‌های تومور B16F10 در موش‌ها، نانوذرات طلا ۱۵ نانومتری را برای بیش از ۲ روز نگهداری می‌کنند [۷۲ و ۷۳ و ۶۹]. این نتایج نشان می‌دهند که ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات می‌تواند تأثیر زیادی بر جذب توسط سلول‌های TAM و سلول‌های تومور داشته باشد. نانوذرات همچنین می‌توانند با اجزای غیرسلولی یک تومور تعامل کنند. این اجزا شامل ماتریکس تومور، وزیکول‌های بیرون‌سلولی، لیوپروتئین‌ها، گلیکوپروتئین‌ها و ضایعات سلولی نکروتیک هستند، اما مهم‌ترین مولفه تومور در ارتباط با نانوذرات ماتریکس تومور است [۸۱ و ۹۱ و ۹۲]. این ماتریکس شامل پروتئین‌های غشای پایه مانند (لامینین،

نانوذرات برای حمل از طریق موانع زیستی متغیر و پویا کمک کنند [۷۷و۵۵].

بر خلاف اثر EPR که تصور می‌شود قابل اعمال در انواع مدل‌های توموری است، اثر ATR دامنه جهانی ندارد و بر اساس طراحی‌های مختلف نانوذرات و مدل‌های توموری، فرموله شده است. نانوذرات و تومورهای آزمایش نشده ممکن است جزو استثناها باشند. به جای تلاش برای یک نظریه جهانی برای نانوپزشکی در درمان سرطان، مجموعه‌ای از مکانیسم‌هایی مانند آنچه در اثر ATR پیشنهاد شد، امکان طراحی نانوذرات برای بهره‌برداری از یک شرایط زیستی خاص را فراهم خواهد کرد [۸۹و۹۰و۱۰۰].

نظریه ATR و مسیر انتقال نانودارو به بافت سرطانی

در نظریه ATR سفر نانوذرات از طریق بدن می‌تواند در مراحل زیر توصیف شود. پس از تزریق وریدی نانوذرات، پروتئین‌های خون بر روی سطح نانوذرات جذب می‌شوند و یک پروتئین کرونا شکل می‌دهند که بر مسیر زیستی آن در بدن تأثیر می‌گذارد. یک فرضیه رایج این است که پروتئین‌های کرونا^{۶۱} مستقیماً با سطح نانومواد برهم‌کنش می‌کنند، در حالی که پروتئین‌های تاج نرم از طریق برهم‌کنش‌های ضعیف پروتئین-پروتئین با تاج سخت برهم‌کنش می‌کنند. از طرف دیگر، پروتئین‌های تاج سخت و نرم هر دو ممکن است مستقیماً با نانومواد تعامل داشته باشند. در حال حاضر شواهد تجربی کمی برای تمایز بین این فرضیه‌ها وجود دارد. نانوذرات پوشیده از پروتئین‌ها سپس گردش می‌کنند و با سلول‌ها و بافت‌های مختلف در راه خود به سمت تومور تعامل می‌کنند. گیرنده‌های سطح سلول ممکن است به پروتئین کرونا برای جذب سلولی متصل شوند، که آپولیپوپروتئین‌ها و پروتئین‌های مکمل نقش‌های کلیدی ایفا می‌کنند [۱۰۳-۱۰۱]. گیرنده‌های سطح سلولی نیز ممکن است خود نانومواد را تشخیص دهند.

از زیست‌شناسی تومور برای بهبود تحویل، فرمولاسیون ایده‌آل نانوذرات و مهم‌تر از همه، دامنه ادعاها. این دو مکانیزم از هم جدا نیستند، زیرا اثر ATR نشان می‌دهد که مکانیسم‌های ورود فعال ممکن است رخ دهند اما نقش کمتری نسبت به مکانیسم‌های غیرفعال دارند. چگونگی استفاده از این مکانیسم‌ها برای بهبود تحویل نانوذرات متفاوت است.

هرچند اثر EPR تنها راهنمایی درباره ورود غیرفعال نانوذرات با تلاش برای تغییر دهنده‌های تراوایی عروق^{۵۷} خونی تومور با استفاده از پپتیدها [۹۸و۹۹]، درمان تصویربرداری حرارتی^{۵۸} [۹۷-۹۵] یا درمان با رادیوایزوتوپ^{۵۹} است [۹۸و۹۹]، اثر ATR در کنترل ورود، خروج و نگهداری نانوذرات نقش مهمی دارد. با تحریک انتقال فعال نانوذرات از طریق ترنس سیتوزیس یا اندامک‌های وزیکولو-واکولار، ورود نانوذرات افزایش می‌یابد. همچنین، با کاهش جریان لنفاوی تومور با استفاده از مولکول‌های کوچک و آنتی‌بادی‌ها، خروج نانوذرات کاهش می‌یابد. برای کنترل نگهداری نانوذرات، می‌توان از پروتئین‌های ماتریکسی متقاطع^{۶۰} یا تجزیه شونده استفاده کرد. دستکاری این فرآیندها امکانات بیشتری برای کنترل دقیق‌تر تحویل نانوذرات فراهم می‌کند [۸۸]. اثر EPR قوانین متمایزی برای طراحی یک نانوذره بهینه (یعنی، اندازه کوچکتر از شکاف‌های بافت اندوتلیال و گردش خون طولانی) فراهم می‌کند [۳۲-۲۹]. اثر ATR نشان می‌دهد که هیچ نانوذره ایده‌آلی وجود ندارد و فرآیند حمل به هدف بیماری، بهترین طراحی را تعیین می‌کند. نانوذرات با اندازه ایده‌آل برای ورود ممکن است نگهداری ضعیفی داشته باشند و نانوذرات بهینه‌سازی شده برای زمان چرخش طولانی ممکن است تعامل سلولی ضعیفی داشته باشند. این تغییرات در تعامل‌های پیچیده نانو-زیستی که در طول سفر تحویل رخ می‌دهد، به یک فضای طراحی نانوذرات بزرگ منتقل می‌شوند. ابزارهای یادگیری ماشینی می‌توانند در طراحی

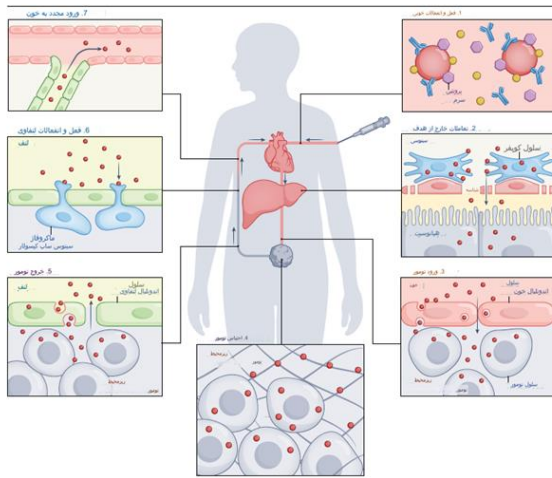
⁵⁷ Vascular Permeability

⁵⁸ Thermal Imaging Therapy

⁵⁹ Radioisotope

⁶⁰ Cross-Linking Matrix Proteins

⁶¹ Protein Corona



شکل ۴. مسیر تحویل نانودارو به بافت سرطانی. (۱)

نانوذرات به صورت وریدی تزریق می‌شوند، محلی که پروتئین‌های سرم خون را جذب می‌کنند. (۲) نانوذرات با بافت‌های غیر توموری مواجه می‌شوند که نانوذرات را جدا می‌کنند و از انتقال به تومور جلوگیری می‌کنند. علاوه بر کبد، اعضای دیگری مانند طحال و کلیه‌ها نانوذرات را از گردش خون پاک می‌کنند. (۳) نانوذرات از طریق فرآیندهای انتقال فعال مانند ترنس سیتوزیس (نشان داده شده) به تومور وارد می‌شوند. مکانیسم‌های دیگر شامل اندام‌های وزیکولو-واکوئولار و اثرات سلول‌های مهاجرتی هستند. مکانیسم‌های انتقال غیر فعال مانند شکاف‌های میان سلولی^{۶۳} نقش کمتری ایفا می‌کنند. (۴) نانوذرات به دلیل تعامل با سلول‌های توموری و اجزای غیر سلول^{۶۴} درون تومور نگهداری می‌شوند. (۵) نانوذرات از تومور به طور اصلی از طریق عروق لنفاوی خارج می‌شوند. در هر دو کانال لنفاوی و مکانیسم‌های اندام‌های وزیکولو-واکوئولار خروج نشان داده شده است. عروق خون تومور نقش کمتری در خروج نانوذرات ایفا می‌کنند. (۶) نانوذرات از طریق گردش لنفاوی حمل می‌شوند، جایی که با سلول‌های ایمنی در عروق لنفاوی و گره‌های لنفاوی برخورد می‌کنند که نانوذرات را جذب می‌کنند. (۷) نانوذرات از طریق مجرای لنفاوی راست (نشان داده شده) یا مجرای سینه‌ای^{۶۵} به گردش خون بازمی‌گردند. نانوذرات سپس این چرخه را تکرار می‌کنند (بازگشت به مرحله اول) تا از گردش پاک شوند.

به عنوان مثال، CD36^{۶۲} در جذب میسل‌های چربی نقش دارد و ممکن است در جذب فرمولاسیون‌های لیپوزوم بالینی نیز دخیل باشد، CD206 در جذب نانوذرات پوشیده از مانوز نقش دارد و گیرنده gp60 در جذب ذرات آلبومینی نقش دارد. علاوه بر این، مکانیسم‌های جذب غیر انتخابی مانند قطره خواری ممکن است جذب سلولی را تحریک کند [۸۹]. بیشتر نانوذرات تزریقی توسط کبد و طحال جدا می‌شوند و برای تحویل به تومور غیر قابل دسترس می‌شوند [۱۰۴-۱۰۶]. نانوذرات کوچکتر از ۵/۵ نانومتر از طریق کلیه‌ها فیلتر می‌شوند [۱۰۷]. نانوذراتی که به تومور می‌رسند از طریق فرایندهای انتقال فعال، از جمله ترنس سیتوزیس، درون بری، اثرات سلول‌های مهاجر و سایر فرایندهایی که هنوز کشف نشده‌اند، عبور می‌کنند. ترنس سیتوزیس توسط فوتوپهای خاص سلول‌های اندوتلیال انجام می‌شود و سلول‌های توموری و نوتروفیل‌ها درون و خارج از رگ‌ها کانال‌هایی ایجاد می‌کنند که به نانوذرات اجازه ورود به فضای تومور را می‌دهند. یک مجموعه از نانوذرات از طریق شکاف‌ها به تومور وارد می‌شوند. هنگامی که نانوذرات درون تومور هستند، آن‌ها از طریق ریز محیط تومور حمل می‌شوند و با اجزای سلولی و غیر سلولی تومور تعامل می‌کنند. حمل نانوذرات از طریق دینامیک سیالات و مکانیسم‌های مبتنی بر سلول انجام می‌شود. فرض می‌شود که مکانیسم حمل دینامیک سیالی به دلیل کاهش فشار سیال بین بافتی، حمل انتقالی سیال و بنابراین حمل نانوذرات انتقالی را کاهش می‌دهد. مکانیسم‌های مبتنی بر سلول شامل TAM‌های دورعروقی هستند که نانوذرات را نزدیک به عروق خونی گردآوری کرده و آن‌ها را به عمق تومورها حمل می‌کنند. TAM‌ها ممکن است همچنین به عنوان انبارهای دارو عمل کنند و احتمالاً نانوذرات را در طی مدت زمان آزاد کنند. هنگامی که نانوذرات حمل می‌شوند، با اجزای سلولی و غیر سلولی تومور تعامل می‌کنند که ممکن است باعث گیر افتادن آن‌ها در داخل تومور شده و سفر آن‌ها از عروق خونی تومور به عروق لنفاوی را به تأخیر بیندازد [۲].

^{۶۲} یک پروتئین غشایی است که به عنوان یک گیرنده شناخته می‌شود و در سطح سلول‌های مختلف بدن، از جمله ماکروفاژها، سلول‌های چربی، و سلول‌های اندوتلیالی یافت می‌شود.

⁶³ Intercellular Gaps

⁶⁴ Non-cellular Components

⁶⁵ Thoracic Duct

لیپوزوم نیز یک چارچوب مکانیکی برای طراحی نانوذرات برای انواع و کاربردهای خاص تومور ارائه می‌دهد. همچنین، اثر ATR برای نانوذرات مربوط به آزمایشات بالینی و فرمولاسیون نانوذراتی که در آزمایشات بالینی شکست خورده‌اند، باید مجدداً آزمایش شوند تا دلایل مکانیکی نتایج بالینی را برای راهنمایی در طراحی‌های آینده نانوذرات آشکار سازند. مکانیسم‌های انتقال فعال در نانوپزشکی نقش بسیار مهمی دارند و برای طراحی نانوذرات برای تحویل دقیق دارو به تومورها بسیار حیاتی هستند. از جمله مکانیسم‌های انتقال فعال می‌توان به نقش پروتئین P - سلکتین در انتقال فعال در سراسر سد خونی مغزی و نقش نوتروفیل‌ها در شکستن غشاء پایه ای اشاره کرد. همچنین، مشاهداتی مانند انفجارهای گذرا در نفوذپذیری عروقی نیز نشان دهنده اهمیت بررسی و درک مکانیسم‌های انتقال فعال در نانوپزشکی در درمان سرطان است.

آینده نانوپزشکی برای درمان سرطان نیازمند تمرکز بر طراحی نانوذرات خاص است و بررسی دقیق‌تر مکانیسم‌های اثر ATR و تأثیر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نانوذرات بر طراحی آن‌ها ضروری است. همچنین، بررسی جزئیات انتقال نانوذرات به ریز محیط تومور و تأثیر جریان، انتشار و انتقال سلولی بر نفوذ نانوذرات نیز از اهمیت بالایی برخوردار است.

در نهایت، استفاده از ابزارهای محاسباتی برای ارتباط زیستی تومور با ویژگی‌های نانوذرات و طراحی نانوذرات مناسب برای تحویل دقیق دارو به تومورها امری حیاتی است. این اطلاعات و داده‌ها می‌توانند به طراحی نانوذرات برای بیماری‌های دیگر نیز کمک کنند و درمان و تشخیص این بیماری‌ها را بهبود بخشند.

نانوذرات از تومور از طریق عروق لنفاوی داخل توموری یا اطراف توموری خارج می‌شوند. نانوذرات بزرگتر از ۳۰ نانومتر از طریق عروق لنفاوی داخل توموری خارج می‌شوند، در حالی که نانوذرات کوچکتر از ۳۰ نانومتر از طریق عروق لنفاوی اطراف توموری خارج می‌شوند. سپس نانوذرات از طریق سیستم لنفاوی حرکت می‌کنند [۵۴] و با سلول‌های ایمنی در گره‌های لنفاوی روبرو می‌شوند. ماکروفاژهای سینوس زیرکپسولی^{۶۶}، سلول‌های دندریتیک فولیکولی^{۶۷} و سلول‌های لنفوسیت B در جداسازی نانوذرات و آلبومین در گره لنفاوی نقش‌های کلیدی ایفا می‌کنند. سلول‌های دندریتیک نانوذرات چربی را در گره‌های لنفاوی به عنوان یک عملکرد از اندازه و بار نانوذرات نگهداری می‌کنند. نانوذراتی که از لنف‌ها فرار می‌کنند، مجدداً در مجراهای سینه‌ای یا گره‌های لنفی وارد گردش خون می‌شوند. در طول این سفر تکراری، تعداد نانوذرات موجود برای تحویل به تومور به دلیل تجزیه‌ی نانوذرات، حذف، یا تعاملات و نگهداری با اعضای خارج از هدف (مانند کبد و طحال) کاهش می‌یابد. در واقع، بدن انسان یک سری سیستم‌های فیلتری فراهم می‌کند که انتقال نانوذرات را حفظ، حذف یا تغییر می‌دهند [۱۱۰-۱۰۸].

۵. نتیجه گیری

در نانوپزشکی سرطان، تعیین مکانیسم‌های صحیح تحویل نانوذرات امری بسیار حیاتی است. این مکانیسم‌ها به عنوان "فراایندهای اساسی که در یک عمل، واکنش یا پدیده طبیعی درگیر یا مسئول آن هستند" تعریف می‌شوند و از اهمیت بنیادی برخوردارند زیرا طراحی محصول را برای دستیابی به نتیجه مطلوب راهنمایی می‌کنند. مکانیسم‌های تحویل نانوذرات در نانوپزشکی در درمان سرطان، طراحی نانوذرات برای درمان و تشخیص سرطان را هدایت می‌کنند. اثر EPR از مکانیسم‌های اصلی تحویل نانوذرات به تومور است که نشان می‌دهد نانوذرات کوچکتر از شکاف‌های بافت اندوتلیالی وارد تومور می‌شوند ولی قادر به خروج نیستند. اثر ATR تعریف شده با استفاده از نانوذرات طلا، سیلیکا و

⁶⁶ Subcapsular Sinus Macrophages

⁶⁷ Follicular Dendritic Cells



۶. منابع

- [1] Mohammad Chehelgerdi, c. a. (2023). Progressing nanotechnology to improve targeted cancer treatment: overcoming hurdles in its clinical implementation. BMC.
- [2] Luan N. M. Nguyen, Wayne Ngo, Zachary P. Lin, Shrey Sindhwani, Presley MacMillan, Stefan M. Mladjenovic & Warren C. W. Chan, The mechanisms of nanoparticle delivery to solid tumours, Springer Nature, (2024)
- [3] Wilhelm, S. et al. Analysis of nanoparticle delivery to tumours. Nat. Rev. Mater. 1, 16014 (2016). This article reports that a low amount of nanoparticles (0.7% injected dose) are delivered to solid tumours.
- [4] Papahadjopoulos, D. & Miller, N. Phospholipid model membranes. I. Structural characteristics of hydrated liquid crystals. Biochim. Biophys. Acta Biomembr. 135, 624–638 (1967).
- [5] Sessa, G. & Weissmann, G. Phospholipid spherules (liposomes) as a model for biological membranes. J. Lipid Res. 9, 310–318 (1968).
- [6] Dong, J. et al. EGFR aptamer-conjugated liposome-polycation-DNA complex for targeted delivery of SATB1 small interfering RNA to choriocarcinoma cells. Biomed. Pharmacother. 107, 849–859 (2018).
- [7] Kim, D., Jeong, Y. Y. & Jon, S. A drug-loaded aptamer-gold nanoparticle bioconjugate for combined CT imaging and therapy of prostate cancer. ACS Nano 4, 3689–3696 (2010).
- [8] Corsi, F. et al. HER2 expression in breast cancer cells is downregulated upon active targeting by antibody-engineered multifunctional nanoparticles in mice. ACS Nano 5, 6383–6393 (2011).
- [9] Cohen, H. et al. Sustained delivery and expression of DNA encapsulated in polymeric nanoparticles. Gene Ther. 7, 1896–1905 (2000).
- [10] Perez, C. et al. Poly(lactic acid)-poly(ethylene glycol) nanoparticles as new carriers for the delivery of plasmid DNA. J. Control. Release 75, 211–224 (2001).
- [11] Levine, R. M., Pearce, T. R., Adil, M. & Kokkoli, E. Preparation and characterization of liposome-encapsulated plasmid DNA for gene delivery. Langmuir 29, 9208–9215 (2013).
- [12] Mai, Y. et al. Intranasal delivery of cationic liposome-protamine complex mRNA vaccine elicits effective anti-tumor immunity. Cell Immunol. 354, 104143 (2020).
- [13] McKay, P. F. et al. Self-amplifying RNA SARS-CoV-2 lipid nanoparticle vaccine candidate induces high neutralizing antibody titers in mice. Nat. Commun. 11, 3523 (2020).
- [14] Ashley, C. E. et al. Delivery of small interfering RNA by peptide-targeted mesoporous silica nanoparticle-supported lipid bilayers. ACS Nano 6, 2174–2188 (2012).
- [15] Zinger, A. et al. Collagenase nanoparticles enhance the penetration of drugs into pancreatic tumors. ACS Nano 13, 11008–11021 (2019).
- [16] Feczak, T., Títh, J., Dsá, G. & Gyenis, J. Optimization of protein encapsulation in PLGA nanoparticles. Chem. Eng. Process Process Intensif. 50, 757–765 (2011).
- [17] Cao, A. et al. A facile method to encapsulate proteins in silica nanoparticles: encapsulated green fluorescent protein as a robust fluorescence probe. Angew. Chem. 122, 3086–3089 (2010).
- [18] George, T. A. et al. Liposome-encapsulated anthraquinone improves efficacy and safety in triple negative breast cancer. J. Control. Release 342, 31–43 (2022).
- [19] Ngo, W. et al. DNA-controlled encapsulation of small molecules in protein nanoparticles.
- [20] Yoo, H. S., Lee, K. H., Oh, J. E. & Park, T. G. In vitro and in vivo anti-tumor activities of J. Am. Chem. Soc. 142, 17938–17943 (2020). nanoparticles based on doxorubicin-



- PLGA conjugates. *J. Control. Release* 68, 419–431 (2000).
- [21] Rayamajhi, S. et al. pH-responsive cationic liposome for endosomal escape mediated drug delivery. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 188, 110804 (2020).
- [22] Palanikumar, L. et al. pH-responsive high stability polymeric nanoparticles for targeted delivery of anticancer therapeutics. *Commun. Biol.* 3, 95 (2020).
- [23] Tai, L.-A. et al. Thermosensitive liposomes entrapping iron oxide nanoparticles for controllable drug release. *Nanotechnology* 20, 135101 (2009).
- [24] Sun, J., Yu, Z., Hong, C. & Pan, C. Biocompatible zwitterionic sulfobetaine copolymercoated mesoporous silica nanoparticles for temperature-responsive drug release. *Macromol. Rapid Commun.* 33, 811–818 (2012).
- [25] Vlasova, K. Y. et al. Magnetic liposome design for drug release systems responsive to super-low frequency alternating current magnetic field (AC MF). *J. Colloid Interf. Sci.* 552, 689–700 (2019).
- [26] Ge, J., Neofytou, E., Cahill, T. J., Beygui, R. E. & Zare, R. N. Drug release from electric-field-responsive nanoparticles. *ACS Nano* 6, 227–233 (2012).
- [27] Nadia Esfandiari a, *. S. (2022). CO₂ utilization as gas antisolvent for the pharmaceutical micro and nanoparticle production: A review. *Arabian Journal of Chemistry*.
- [28] Sun, D., Zhou, S. & Gao, W. What went wrong with anticancer nanomedicine design and how to make it right. *ACS Nano* 14, 12281–12290 (2020).
- [29] Mahshid Askarizadeh[1], N. E. (2023). Kinetic Modeling to Explain the Release of Medicine from Drug Delivery Systems. *ChemBioEng Rev.*
- [30] Peer, D. et al. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nat. Nanotechnol.* 2, 751–760 (2007). This review describes the EPR effect, that is, a passive mechanism of nanoparticle accumulation in tumours and retention due to dysfunctional tumour lymphatics.
- [31] Nakamura, H., Fang, J., Jun, F. & Maeda, H. Development of next-generation macromolecular drugs based on the EPR effect: challenges and pitfalls. *Expert Opin. Drug Deliv.* 12, 53–64 (2014).
- [32] Lammers, T., Kiessling, F., Hennink, W. E. & Storm, G. Drug targeting to tumors: principles, pitfalls and (pre-) clinical progress. *J. Control. Release* 161, 175–187 (2012).
- [33] Matsumura, Y. & Maeda, H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumoritropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res.* 46, 6387–6392 (1986). This article established the accumulation and retention of macromolecules in solid tumours, linking these observations to tumour blood vascular leakiness and poor lymphatic drainage, providing the foundation of the EPR effect.
- [34] He, H., Liu, L., Morin, E. E., Liu, M. & Schwendeman, A. Survey of clinical translation of cancer nanomedicines — lessons learned from successes and failures. *Acc. Chem. Res.* 52, 2445–2461 (2019). This review analyses nanomedicines in clinical trials, and describes the reasons for their success and failure.
- [35] Nichols, J. W. & Bae, Y. H. EPR: evidence and fallacy. *J. Control. Release* 190, 451–464 (2014).
- [36] Danhier, F. To exploit the tumor microenvironment: since the EPR effect fails in the clinic, what is the future of nanomedicine? *J. Control. Release* 244, 108–121 (2016).
- [37] Nakamura, Y., Mochida, A., Choyke, P. L. & Kobayashi, H. Nanodrug delivery: is the enhanced permeability and retention effect



sufficient for curing cancer? *Bioconjug. Chem.* 27, 2225–2238 (2016).

[38] Park, K. The drug delivery field at the inflection point: time to fight its way out of the egg. *J. Control. Release* 267, 2–14 (2017).

[39] Weil, R. Chemotherapeutic experiments on rat tumors. *J. Cancer Res.* <https://doi.org/10.1158/jcr.1916.95> (1916).

[40] Duran-Reynals, F. Studies on the localization of dyes and foreign proteins in normal and malignant tissues. *Am. J. Cancer* 3, 98–107 (1939).

[41] Gerlowski, L. E. & Jain, R. K. Microvascular permeability of normal and neoplastic tissues. *Microvasc. Res.* 31, 288–305 (1986).

[42] Kreuter, J. Nanoparticle-based drug delivery systems. *J. Control. Release* 16, 169–176 (1991).

[43] Oppenheim, R. C. Solid colloidal drug delivery systems: nanoparticles. *Int. J. Pharm.* 8, 217–234 (1981).

[44] Tabata, Y., Murakami, Y. & Ikada, Y. Photodynamic effect of polyethylene glycol-modified fullerene on tumor. *Jpn. J. Cancer Res.* 88, 1108–1116 (1997).

[45] Allemann, E. et al. PEG-coated poly(lactic acid) nanoparticles for the delivery of

hexadecafluoro zinc phthalocyanine to EMT-6 mouse mammary tumours. *J. Pharm. Pharmacol.* 47, 382–387 (1995).

[46] Hodoshima, N. et al. Lipid nanoparticles for delivering antitumor drugs. *Int. J. Pharm.* 146, 81–92 (1997).

[47] Rui Sun a 1, J.Y. S.Z. (2022). The tumor EPR effect for cancer drug delivery: Current status, limitations, and alternatives. *Advanced Drug Delivery Reviews*.

[48] Iwai, K., Maeda, H. & Konno, T. Use of oily contrast medium for selective drug targeting to tumor: enhanced therapeutic effect

and X-ray image. *Cancer Res.* 44, 2115–2121 (1984).

[49] Padera, T. P. et al. Lymphatic metastasis in the absence of functional intratumor lymphatics. *Science* 296, 1883–1886 (2002). This article presents evidence that tumour lymphatics are dysfunctional and collapsed, suggesting a mechanism of poor lymphatic drainage of the EPR effect.

[50] Prabhakar, U. et al. Challenges and key considerations of the enhanced permeability and retention effect for nanomedicine drug delivery in oncology. *Cancer Res.* 73, 2412–2417 (2013).

[51] MacMillan, P. et al. Toward predicting nanoparticle distribution in heterogeneous tumor tissues. *Nano Lett.* 23, 7197–7205 (2023).

[52] Cheng, Y.-H., He, C., Riviere, J. E., Monteiro-Riviere, N. A. & Lin, Z. Meta-analysis of nanoparticle delivery to tumors using a physiologically based pharmacokinetic modeling and simulation approach. *ACS Nano* 14, 3075–3095 (2020).

[53] Dai, Q. et al. Quantifying the ligand-coated nanoparticle delivery to cancer cells in solid tumors. *ACS Nano* 12, 8423–8435 (2018). This article established that only 0.0014% of injected nanoparticles are delivered to cancer cells.

[54] Nguyen, L. N. M. et al. The exit of nanoparticles from solid tumours. *Nat. Mater.* 22, 1261–1272 (2023). This article reports that nanoparticles exit the tumour through the lymphatics in and around the tumour, and proposes the ATR principle as an alternative mechanism of nanoparticle delivery.

[55] Petros, R. A. & DeSimone, J. M. Strategies in the design of nanoparticles for therapeutic applications. *Nat. Rev. Drug Discov.* 9, 615–627 (2010).

[56] Sindhvani, S. et al. The entry of nanoparticles into solid tumours. *Nat. Mater.* 19, 566–575 (2020). This article reports that



active transport processes of nanoparticle entry are dominant over passive transport.

[57] Duncan, R. Polymer conjugates for tumour targeting and intracytoplasmic delivery. The EPR effect as a common gateway? *Pharm. Sci. Technol. Today* 2, 441–449 (1999).

[58] Duncan, R. The dawning era of polymer therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2, 347–360 (2003).

[59] Ferrari, M. Cancer nanotechnology: opportunities and challenges. *Nat. Rev. Cancer* 5, 161–171 (2005).

[60] Duncan, R. Polymer conjugates as anticancer nanomedicines. *Nat. Rev. Cancer* 6, 688–701 (2006).

[61] Greish, K. Enhanced permeability and retention of macromolecular drugs in solid tumors: a royal gate for targeted anticancer nanomedicines. *J. Drug Target.* 15, 457–464 (2008).

[62] Hanahan, D. & Weinberg, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell* 100, 57–70 (2000).

[63] Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 144, 646–674 (2011).

[64] Yuan, F. et al. Microvascular permeability and interstitial penetration of sterically stabilized (stealth) liposomes in a human tumor xenograft. *Cancer Res.* 54, 3352–3356 (1994).

[65] Yuan, F. et al. Vascular permeability in a human tumor xenograft: molecular size dependence and cutoff size. *Cancer Res.* 55, 3752–3756 (1995).

[66] Hobbs, S. K. et al. Regulation of transport pathways in tumor vessels: role of tumor type and microenvironment. *Proc. Natl Acad. Sci.* 95, 4607–4612 (1998). This article presents electron microscopy images of nanoparticles entering the tumour via interendothelial gaps, suggesting a mechanism of enhanced permeability of the EPR effect.

[67] Zhang, Y. et al. Strategies to improve tumor penetration of nanomedicines through nanoparticle design. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol.* 11, e1519 (2019).

[68] Bazak, R., Hourri, M., Achy, S. E., Hussein, W. & Refaat, T. Passive targeting of nanoparticles to cancer: a comprehensive review of the literature. *Mol. Clin. Oncol.* 2, 904–908 (2014).

[69] Wang, M. & Thanou, M. Targeting nanoparticles to cancer. *Pharmacol. Res.* 62, 90–99 (2010).

[70] Kalyane, D. et al. Employment of enhanced permeability and retention effect (EPR): Nanoparticle-based precision tools for targeting of therapeutic and diagnostic agent in cancer. *Mater. Sci. Eng. C* 98, 1252–1276 (2019).

[71] Sharifi, b. M. (2022). An Updated Review on EPR-Based Solid Tumor Targeting Nanocarriers for Cancer Treatment. MDPI.

[72] Maeda, H., Wu, J., Sawa, T., Matsumura, Y. & Hori, K. Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review. *J. Control. Release* 65, 271–284 (2000).

[73] Krešimir Pavelić 1, *. K. (2023). Nanoparticles in Medicine: Current Status in Cancer Treatment. MDPI.

[74] Xianzhou Huang, T. H. (2024). Advances and applications of nanoparticles in cancer therapy.

[75] Kingston, B. R. et al. Specific endothelial cells govern nanoparticle entry into solid tumors. *ACS Nano* 15, 14080–14094 (2021).

[76] Thurston, G. et al. Cationic liposomes target angiogenic endothelial cells in tumors and chronic inflammation in mice. *J. Clin. Invest.* 101, 1401–1413 (1998).

[77] Feng, D., Nagy, J. A., Dvorak, H. F. & Dvorak, A. M. Ultrastructural studies define soluble macromolecular, particulate, and



cellular transendothelial cell pathways in venules, lymphatic vessels, and tumor-associated microvessels in man and animals. *Microsc. Res. Tech.* 57, 289–326 (2002).

[78] Kohn, S., Nagy, J. A., Dvorak, H. F. & Dvorak, A. M. Pathways of macromolecular tracer transport across venules and small veins. Structural basis for the hyperpermeability of tumor blood vessels. *Lab. Invest.* 67, 596–607 (1992).

[79] Harney, A. S. et al. Real-time imaging reveals local, transient vascular permeability, and tumor cell intravasation stimulated by TIE2hi macrophage-derived VEGFA. *Cancer Discov.* 5, 932–943 (2015).

[80] Liang, C. et al. Tumor metastasis inhibition by imaging-guided photothermal therapy with single-walled carbon nanotubes. *Adv. Mater.* 26, 5646–5652 (2014).

[81] Kwong, B., Gai, S. A., Elkhader, J., Wittrup, K. D. & Irvine, D. J. Localized immunotherapy via liposome-anchored anti-CD137 + IL-2 prevents lethal toxicity and elicits local and systemic antitumor immunity. *Cancer Res.* 73, 1547–1558 (2013).

[82] Naumenko, V. A. et al. Extravasating neutrophils open vascular barrier and improve liposomes delivery to tumors. *ACS Nano* 13, 12599–12612 (2019).

[83] Ballou, B. et al. Sentinel lymph node imaging using quantum dots in mouse tumor models. *Bioconjug. Chem.* 18, 389–396 (2007).

[84] Valdés-Olmos, R. A. et al. Evaluation of mammary lymphoscintigraphy by a single intratumoral injection for sentinel node identification. *J. Nucl. Med.* 41, 1500–1506 (2000).

[85] Liu, J. et al. Enhanced primary tumor penetration facilitates nanoparticle draining into lymph nodes after systemic injection for tumor metastasis inhibition. *ACS Nano* 13, 8648–8658 (2019).

[86] Qin, L. et al. A tumor-to-lymph procedure navigated versatile gel system for combinatorial therapy against tumor recurrence and metastasis. *Sci. Adv.* 6, eabb3116 (2020).

[87] Jiang, X. et al. Intratumoral administration of STING-activating nanovaccine enhances T cell immunotherapy. *J. Immunother. Cancer* 10, e003960 (2022).

[88] Ludford, R. J. The vital staining of normal and malignant cells.-II. The staining of malignant tumours with trypan blue. *Proc. R. Soc. Lond. B* 104, 493–512 (1929).

[89] Lin, Z. P. et al. Macrophages actively transport nanoparticles in tumors after extravasation. *ACS Nano* 16, 6080–6092 (2022). This article reports that nanoparticle transport through the tumour occurs via cellular-based mechanisms, showing that perivascular macrophages sequester extravasated nanoparticles and transport them throughout the tumour.

[90] Miller, M. A. et al. Tumour-associated macrophages act as a slow-release reservoir of nano-therapeutic Pt(IV) pro-drug. *Nat. Commun.* 6, 8692 (2015).

[91] Cedervall, T. et al. Understanding the nanoparticle–protein corona using methods to quantify exchange rates and affinities of proteins for nanoparticles. *Proc. Natl Acad. Sci.* 104, 2050–2055 (2007).

[92] Tenzer, S. et al. Rapid formation of plasma protein corona critically affects nanoparticle pathophysiology. *Nat. Nanotechnol.* 8, 772–781 (2013).

[93] Goncalves, A. et al. Micellar lipid composition affects micelle interaction with class B scavenger receptor extracellular loops. *J. Lipid Res.* 56, 1123–1133 (2015).

[94] Schnitzer, J. E. gp60 is an albumin-binding glycoprotein expressed by continuous endothelium involved in albumin transcytosis. *Am. J. Physiol. Heart C.* 262, H246–H254 (1992).



- [95] Gormley, A. J. et al. Guided delivery of polymer therapeutics using plasmonic photothermal therapy. *Nano Today* 7, 158–167 (2012).
- [96] Zhen, Z. et al. Tumor vasculature targeted photodynamic therapy for enhanced delivery of nanoparticles. *ACS Nano* 8, 6004–6013 (2014).
- [97] Sano, K., Nakajima, T., Choyke, P. L. & Kobayashi, H. Markedly enhanced permeability and retention effects induced by photo-immunotherapy of tumors. *ACS Nano* 7, 717–724 (2013).
- [98] Liang, C. et al. Nanoparticle-mediated internal radioisotope therapy to locally increase the tumor vasculature permeability for synergistically improved cancer therapies. *Biomaterials* 197, 368–379 (2019).
- [99] Ashton, J. R. et al. Dual-energy CT imaging of tumor liposome delivery after gold nanoparticle-augmented radiation therapy. *Theranostics* 8, 1782–1797 (2018).
- [100] Haber, T. et al. Specific targeting of ovarian tumor-associated macrophages by large, anionic nanoparticles. *Proc. Natl Acad. Sci.* 117, 19737–19745 (2020).
- [101] Walkey, C. D., Olsen, J. B., Guo, H., Emili, A. & Chan, W. C. W. Nanoparticle size and surface chemistry determine serum protein adsorption and macrophage uptake. *J. Am. Chem. Soc.* 134, 2139–2147 (2012).
- [102] Menard, J. A., Cerezo-Magaá, M. & Belting, M. Functional role of extracellular vesicles and lipoproteins in the tumour microenvironment. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 373, 20160480 (2018).
- [103] Frankel, W. L. & Jin, M. Serosal surfaces, mucin pools, and deposits, Oh my: challenges in staging colorectal carcinoma. *Mod. Pathol.* 28, S95–S108 (2015).
- [104] Ouyang, B. et al. The dose threshold for nanoparticle tumour delivery. *Nat. Mater.* 19, 1362–1371 (2020).
- [105] Poon, W. et al. Elimination pathways of nanoparticles. *ACS Nano* 13, 5785–5798 (2019).
- [106] Tsoi, K. M. et al. Mechanism of hard-nanomaterial clearance by the liver. *Nat. Mater.* 15, 1212–1221 (2016).
- [107] Choi, H. S. et al. Renal clearance of quantum dots. *Nat. Biotechnol.* 25, 1165–1170 (2007).
- [108] Zhang, Y.-N. et al. Nanoparticle size influences antigen retention and presentation in lymph node follicles for humoral immunity. *Nano Lett.* 19, 7226–7235 (2019).
- [109] Zhang, Y.-N., Poon, W., Sefton, E. & Chan, W. C. W. Suppressing subcapsular sinus macrophages enhances transport of nanovaccines to lymph node follicles for robust humoral immunity. *ACS Nano* 14, 9478–9490 (2020).
- [110] Nakamura, T. et al. The effect of size and charge of lipid nanoparticles prepared by microfluidic mixing on their lymph node transitivity and distribution. *Mol. Pharm.* 17, 944–953 (2020).



The mechanisms of nanoparticle delivery to solid tumors

Kimiya Danaiyfar , Seyed Mohsen Dehnavi*

Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran ,
Iran

Abstract:

Nanoparticles have emerged as a promising tool for cancer diagnosis and treatment; however, their delivery to solid tumors remains a significant challenge. One of the primary issues is the inadequate understanding of the mechanisms involved in delivering nanoparticles to solid tumors. This review explores two proposed mechanisms for nanoparticle delivery and their implications for designing nanoparticles for cancer applications. The EPR effect describes how nanoparticles can passively accumulate in tumor tissues through gaps in the endothelial cells of tumor vasculature. This phenomenon occurs due to the unique characteristics of tumor microenvironments, such as increased vascular permeability and poor lymphatic drainage. While this mechanism has been widely studied, it often proves inefficient, leading to suboptimal therapeutic outcomes. To address the limitations of the EPR effect, an alternative mechanism known as the Active Targeting and Retention (ATR) effect has been proposed. The ATR mechanism emphasizes the active entry, retention, and exit of nanoparticles in tumor tissues. By enhancing the interaction between nanoparticles and tumor cells, this approach aims to improve the efficiency of drug delivery and therapeutic efficacy. In conclusion, understanding these delivery mechanisms is vital for advancing nanomedicine and enhancing cancer treatment strategies. Ongoing research into optimizing nanoparticle design based on these mechanisms could significantly improve their therapeutic effectiveness in targeting solid tumors.

Keywords: nanoparticles, cancer, nanoparticle transport, transport mechanism, penetration and retention effect, active transport effect, endothelial tissue gaps, lymphatic medicine, nanomedicine.