

Új minimálinvazív kezelési lehetőségek jó- és rosszindulatú fül-orr-gégészeti betegségekben nanoszerkezetű hatóanyag-leadó rendszerek alkalmazásával

Szabó Diána dr.^{1,3} ■ Janovák László dr.² ■ Mohamed Abdelgafour²
Takács Tamás² ■ Csanády Miklós Jr. dr.¹ ■ Spengler Gabriella dr.³
Szakács László dr.¹ ■ Csanády Miklós dr.¹ ■ Rovó László dr.¹

¹Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ,
Fül-Orr-Gégészeti és Fej-Nyaksebészeti Klinika, Szeged

²Szegedi Tudományegyetem, Természettudományi és Informatikai Kar,
Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék, Szeged

³Szegedi Tudományegyetem, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ, Orvosi Mikrobiológiai Intézet, Szeged

A fej-nyaki daganatok ma Magyarországon a 4. leggyakoribb daganatos betegségek. Az etiológiai faktorokat tekintve vezető tényező a dohányzás és az alkoholfogyasztás. Ezek hiányában a HPV-pozitivitás számít oki tényezőnek. Az eredményes kezelés egyénre szabottan ötvözi a sebészi, kemo-, sugár- és immunterápiát. Munkánkban a kemoterápiás szerek mellékhatásprofiljának szűkítését próbáltuk csökkenteni két ismert és széles körben használt kemoterapeutikumot, ciszplatint és mitomicin C-t tartalmazó, új nanotechnológiai gyógyszerbeviteli rendszer kialakításával. A poli(vinil-alkohol)-tartalmú szintetikus polimerből gyógyszerbeviteli rendszert alakítottunk ki, mely tartalmazza a ciszplatin vagy mitomicin C kemoterapeutikumot. A nanotechnológiai gyógyszerleadó rendszer a célterületre való bevitel után a hatóanyagot koncentrációfüggő mennyiségben, időkontrolláltan adja le a kívánt hatás eléréséhez. Vizsgált szintetikus polimerünk a mukoadhezív, biokompatibilis, biodegradábilis tulajdonságait kiaknázva a hatóanyag leadása után eliminálódik. Ez a korszerű nanotechnológiai gyógyszerbeviteli rendszer egy új lokális kemoterápia lehetőségét veti fel, mellyel nagy fokban csökkenthetjük a kemoterápiás szerek ismert, sok esetben a kemoterápiás kezelés felfüggesztését okozó, súlyos, életet veszélyeztető mellékhatásait.

Orv Hetil. 2024; 165(10): 370–378.

Kulcsszavak: ciszplatin, mitomicin C, fej-nyaki rosszindulatú daganatok, módosított poli(vinil-alkohol), önszerveződő polimergyógyszer-leadó rendszer

New minimally invasive treatment options in benign and malignant otorhinolaryngological diseases using nanostructured drug delivery systems

Head and neck tumours are the 4th most common cancers in Hungary today. In terms of etiological factors, smoking and alcohol consumption are the leading ones. In the absence of these, HPV positivity counts as a causal factor. The successful treatment combines surgery, chemo-, radio- and immunotherapy in an individualized manner. In our study, we tried to narrow down the side-effect profile of two well-known and widely used chemotherapeutic agents, namely, cisplatin and mitomycin C, using a newly designed drug delivery system. We created a drug delivery system from the biocompatible polyvinyl alcohol-containing synthetic polymer, which encapsulates the chemotherapeutic agents cisplatin or mitomycin C. The drug delivery system produced by nanotechnology, after application to the target area, the active substance is released in a concentration-dependent amount in a time-controlled manner to achieve the desired effect. Exploiting the mucoadhesive, biocompatible, biodegradable properties of our tested synthetic polymer, the active ingredient is eliminated after release. This new nanotechnological drug delivery system raises the possibility of a new local chemotherapy, with which we can greatly reduce the known, serious life-threatening side effects of chemotherapeutic agents, which in many cases result in the suspension of chemotherapeutic treatment.

Keywords: cisplatin, mitomycin C, otorhinolaryngological cancers, modified polyvinyl-alcohol, self-assembled polymeric drug delivery system

Szabó D, Janovák L, Mohamed A, Takács T, Csanády M Jr, Spengler G, Szakács L, Csanády M, Rovó L. [New minimally invasive treatment options in benign and malignant otorhinolaryngological diseases using nanostructured drug delivery systems]. *Orv Hetil.* 2024; 165(10): 370–378.

(Beérkezett: 2023. november 27.; elfogadva: 2024. január 11.)

Rövidítések

DDS = (drug delivery system) gyógyszerszállító rendszer; DNS = dezoxiribonukleinsav; EDX = (energy dispersive X-ray spectroscopy) energiadiszipatív röntgenspektroszkópia; FTIR = (Fourier-transform infrared spectroscopy) Fourier-transzformációs infravörös spektroszkópia; GLOBOCAN = (Global Cancer Observatory) a rákos megbetegedések globális statisztikáját tartalmazó adatbázis; HPV = humán papillomavírus; LD₅₀ = letális dózis, 50%; miRNS = mikro-ribonukleinsav; MMC = mitomicin C; MTT = 3-(4,5-dimetil-2-tiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazólium-bromid; OD = optikai denzitás; OTKA = Országos Tudományos Kutatási Alapprogramok; PVA = poli(vinil-alkohol); PVA-SA = szukcinált poli(vinil-alkohol); PVA-SA-CYS-MMC = mitomicin C-t tartalmazó szukcinált poli(vinil-alkohol); SDS = (sodium dodecyl sulfate) nátrium-dodecil-szulfát

A fej-nyaki rosszindulatú daganatokat érintő morbiditási és mortalitási statisztikák világszerte és Magyarországon is kiemelkedően rosszak. A világ legnagyobb rákregisztere, a GLOBOCAN 2015-ben közzétett adatai alapján évente mintegy 600 000 új fej-nyaki daganatos betegséget diagnosztizálnak világszerte, ezzel ez a betegcsoport az ötödik leggyakoribb malignitás [1]. A magyar epidemiológiai adatokat tekintve hazánkban a tüdő-, vastagbél- és emlődaganatokat követően a fej-nyaki daganatok a 4. leggyakoribb daganatos megbetegedések. 2020-ban a Nemzeti Rákregiszterben rögzített új fej-nyaki tumoros megbetegedések közül a kiindulási régiót tekintve: 734 gége-, 366 algarat-, 1150 szájüreg-szájgarat, valamint 325 nyálmirigy-, orr- és melléküreg-, valamint orrgarati daganat volt [2, 3].

A fej-nyaki daganatok terápiájában fontos szempont a kiváltó okok ismerete. Természetesen a sok lehetséges ok közül sokszor nehéz oki tényezőt azonosítani, de három fontos tényezőt szükséges megemlíteni.

A fej-nyaki daganatok kialakulását elősegítő etiológiai faktorok közül napjainkban is élen jár a dohányzás és a túlzott alkoholfogyasztás. A két faktor együttes megléte szinergista módon akár tízszeresére fokozza a daganatok előfordulását, mivel az etanol potenciózza a dohányból felszabaduló karcinogének felszívódását. Emellett fogyasztásuk a fiatalabb korosztályban sajnálatosan gyakoribbá vált, ami jól mutatja a szájüregi rosszindulatú daganatok kb. 10 évvel korábbi előfordulását, azaz a 45–55 éves korosztályban a 60 és a fölötti helyett.

Az utóbbi évtizedekben vált bizonyítottá, hogy a dohány-, alkoholfogyasztás-hiányos etiológia mellett kialakult daganatokat nagy számban humán papillomavírusok (HPV16, HPV18) okozzák. A HPV-vakcinázás fontossága már nem kérdéses, ami remélhetőleg csökkenteni fogja a daganatok előfordulási gyakoriságát. Ma a kezelési stratégia megtervezéséhez már elengedhetetlen a HPV-kimutatás, mivel a HPV-pozitív fej-nyaki daganatok jobban reagálnak a műtéti, sugár-, kemo- és immunterápiára is a HPV-negatív rákokkal szemben. A HPV-pozitív és -negatív daganatos szövetek, valamint a környező nyálkahártyamezők miRNS-expressziós mintázatában lévő különbségek ismerete segítheti új, hatékony, szervkímélő terápiás stratégiák kidolgozását [4].

Az elmúlt évtizedekben alkalmazott onkológiai kezelések tapasztalatai rávilágítottak arra, hogy az etiológiai faktorok (dohányzás [5], alkoholfogyasztás [6, 7], HPV-pozitivitás [8]) ismeretében megválasztott eredményes kezelés az az egyénre szabott terápia, amely ötvözi a sebészi, kemo-, immun- és sugárkezelést (vagy válfajait, mint például a brachytherapia) [9–11].

A fej-nyaki rosszindulatú daganatok kezelésében a leggyakrabban alkalmazott kemoterapeutikum a ciszplatin, mely a DNS-replikáció gátlásával fejt ki sejtkárosító hatását. Intravénás alkalmazása során súlyos mellékhatásokat tud okozni, mint például csontvelő-szuppresszió, nephro-, oto-, neurotoxicitás [12, 13]. Sok esetben a kemoterápia alkalmazását a mellékhatások életet veszélyeztető súlyossága miatt kell felfüggeszteni, ami a sikeres daganatellenes kezelés gátja [14–16].

A mitomicin C (MMC) a *Streptomyces caespitosus*ból izolált, daganatellenes, antifibrotikus [17] és antibiotikus hatással rendelkező, vízben rosszul oldódó antiproliferatív bifunkciós alkilezőszer, amely a DNS-láncokhoz kötődve gátolja a DNS-szintézist [18]. A közismert kemoterápiás szerként történő alkalmazáson (gyomor- [19], mell- [20] és hólyagrák [21]) kívül az MMC-t széles körben alkalmazzák antifibrotikus gyógyszerként szemészeti [22, 23] és fej-nyaki [24] műtétek után a hegyszövetképződés megelőzésére. Hosszú ideig történő intravénás alkalmazása során mellékhatásként vese-, gyomor-bél rendszeri és csontvelő-károsodást okozhat. A szabad formában (például subcutan injekcióban) beadott MMC nagyon rövid idő alatt ürül ki a szervezetből [25]. Hasonló hatás létrehozásához az MMC orális adagolásakor körülbelül 8-szoros adagra van szükség az int-

ravénás és intraperitonealis (hólyagrák) adagoláshoz képest, ráadásul az MMC orális adagolása esetén az LD₅₀ 3–12-szerese volt az injekciós beadású LD₅₀-nek [26].

A ciszplatin és az MMC kellő terápiás hatásának kiváltásához, a súlyos mellékhatások kiküszöbölésére, intravénás alkalmazásuk csökkentése érdekében új gyógyszerbeviteli módok fejlesztése válik szükségessé. A nanotechnológiai eszközök orvosi felhasználását illetően a fül-orr-gégészet két fontos területe: a jóindulatú szűkületes és a rosszindulatú rákos gége-algarati betegségek lehetnek új kezelési célpontok.

Ilyen megoldást jelenthet a szabályozott (és gyakran célzott) hatóanyag-felszabadulást lehetővé tévő modern, nanotechnológiai módszerekkel készített *gyógyszerszállító rendszerek* (drug delivery systems – DDS-ek) alkalmazása.

Módszerek

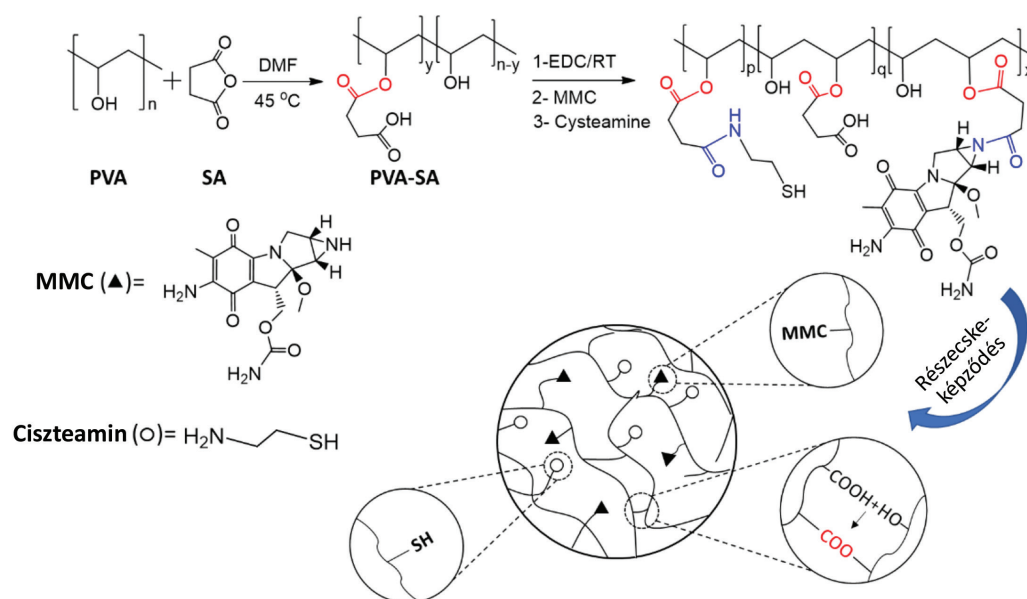
Poli(vinil-alkohol) (PVA)-alapú DDS-ek szintézise

A poli(vinil-alkohol) (PVA)-alapú DDS szintézise során borostyánkősav-anhidriddel úgy módosítottuk a kiindulási makromolekula-láncot, hogy az egyre növekvő mennyiségben (rendre 0,5, 1,65 és 3,4 mmol/g) karboxil (COOH)-csoportokat tartalmazzon, amelyek a polimerláncon található hidroxil (OH)-csoportokkal megfelelő körülmények között észterkötéseket alakítanak ki (1. ábra). A makromolekula mukoadhezív tulajdonságát ciszteamminnal biztosítottuk, míg az MMC, illetve ciszplatin hatóanyag-molekulákat szintén kémiai kötésekkel kapszoltuk a polimerláncra [27].

3-(4,5-dimetil-2-tiazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazólium-bromid (MTT)-módszer

A ciszplatin és MMC vegyületek sejtosztódásra gyakorolt hatását 96 lyukú mikrotiterlemezekben határoztuk meg. Az adherens Hep-2 humán gégecarcinoma (6000 sejt/lyuk/100 µl) sejteket Eagle-féle minimális esszenciális médiumban felvéve kitapasztottuk 96 lyukú mikrotiterlemezekben 4–16 órán át. Egy másik mikrotiterlemez harmadik oszlopába 190 µl tápfolyadékhoz 10 µl-t adtunk a ciszplatin és MMC vegyületek 10 mM-os koncentrációjú törzsoldataiból, és innen hígítottuk tovább az anyagokat felező hígítási módszerrel. Ezt követően a kész hígítási sorokat a már kitapadt sejtekre mértük. A lemezen az első oszlop a médiumkontroll, a második oszlop a kezetlen-sejt-kontroll volt. Végül az összes oszlopra még 100 µl tápfolyadékot mértünk, így a vegyületek kezdeti koncentrációja 100 µM lett. A lemezeket ezután 37 °C hőmérsékleten inkubáltuk 72 órán át, CO₂-termosztátban. Az inkubáció után 20 µl MTT-t (5 mg/ml-es törzsoldatból, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) mértünk a lemezekre, majd további 4 óra múlva 100 µl 10% SDS (nátrium-dodecil-szulfát)-HCl elegyet, a formazánkristályok szolubilizálása végett. A lemezeket további 24 órán át inkubáltuk CO₂-termosztátban. A lemezek optikai denzitását (OD) Multiskan EX ELISA mikrotiterlemez-leolvasóval (Thermo Labsystems, Cheshire, WA, USA) mértük 540 és 630 nm-en, hogy számszerű adatot kapjunk a sejtpusztulás mértékéről. A mérések során az IC₅₀-értéket határoztuk meg, amely azt a koncentrációt jelenti, amelyenél a vizsgált sejtek 50%-a elpusztul a kontrollhoz képest, az alábbi képlet alapján:

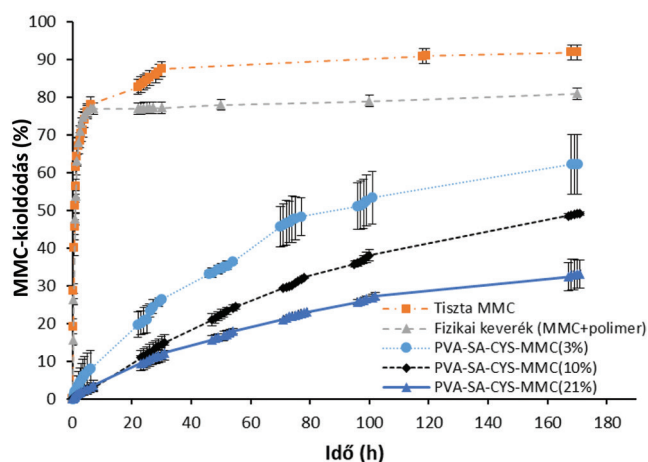
$$IC_{50} = 100 - [(OD_{\text{kezelt}} - OD_{\text{médiumkontroll}}) / (OD_{\text{kezetlen}} - OD_{\text{médiumkontroll}})] \times 100$$



1. ábra

Az MMC-tartalmú, módosított PVA polimeren alapuló DDS szintézisének vázlata

DDS = gyógyszerszállító rendszer; DMF = dimetil-formamid; EDC/RT = 1-(3-dimetil-amino-propil)-3-etil-karboxidiimid-hidroklorid szobahőmérsékleten; MMC = mitomicin C; PVA = poli(vinil-alkohol); PVA-SA = szukcinált poli(vinil-alkohol)



2. ábra A tiszta MMC, a fizikai keverékből származó MMC és a különböző térhálósűrűséggel rendelkező PVA-SA-CYS-MMC *in vitro* kioldódási görbéi
MMC = mitomicin C; PVA – poli(vinil-alkohol); PVA-SA = szukcinált poli(vinil-alkohol); PVA-SA-CYS-MMC = mitomicin C-t tartalmazó szukcinált poli(vinil-alkohol)

Eredmények

Az MMC-tartalmú hatóanyagot leadó nanorészecskék szintézise

A PVA-alapú DDS karboxilálási reakciójának és az MMC hatóanyag, illetve ciszteamin konjugációs reakciójának vázlatát az 1. ábrán látható; piros színnel a kialakuló észter-, míg kékkel az amidkötéseket tüntettük fel. Korábbi dolgozatunkban szerkezetvizsgálati módszerekkel igazoltuk az alábbi szerkezet helyességét, illetve elektronmikroszkópos felvételekkel azt is bemutattuk, hogy a makromolekula-láncokról lelógó COOH- és OH-csoportok között kialakuló észterkötéseknek köszönhetően önszerveződő módon képződnek 250 nm-nél kisebb nanorészecskék [27]. A kialakuló észterkötések sűrűségével ráadásul a hatóanyag-kioldódás is szabályozható volt, ahogy azt a későbbiekben ismertetjük. A részecskék muokoadhezív tulajdonságát reológiai, illetve turbiditásmérésekkel igazoltuk.

Az MMC hatóanyag kioldódása

A különböző gyógyszerformákból kioldódó MMC hatóanyag felszabadulási profilja a 2. ábrán látható. A tiszta (becsomagolatlan) MMC és a fizikai keverékből történő kioldódás túl gyors folyamat volt, a maximális kibocsátási százalék 92, illetve 81%-nak adódott. Ezzel szemben az MMC felszabadulása az eltérő térhálósűrűséggel (3, 10 és 21%) rendelkező konjugált formából (PVA-SA-CYS-MMC) nyújtott hatóanyag-leadású profilokat eredményezett, amelyeket a konjugált formából származó MMC-rész amidhidrolízise határoz meg. Az amidhidrolízis reakciói nagyon lassúak, ezért viszonylag hosszú ideig tartott a platóérték elérése. A maximális MMC-felszabadulási érték 7 nap után a legnagyobb térhálósűrűséggel (21%) rendelkező minta esetében volt a legkisebb (33,1%), majd ezt követte a 10 és 3%-os térhálósűrűséggel rendelkező minta 49,1 és 62,2%-kal. A kinetikai görbék részletesebb értékelése során a görbéket a Korsmeyer–Peppas-moddell [28] illesztettük, amelynél a hatóanyag-felszabadulási mechanizmus diffúzió- és erózióvezérelt mechanizmusoktól is függ [29–32]. Módosított polimerünk alkalmazásával az MMC hatóanyag felszabadulási sebessége jelentősen meghosszabbítható volt, továbbá a felszabaduló hatóanyag mennyisége és kinetikája a szintézis körülményei szerint hangolható.

A PVA-MMC daganatellenes hatása

Az MMC és konjugált formáinak rákellenes hatását is tanulmányoztuk. 1, 3, 5 és 7 nap elteltével a DDS-ből kioldódott, az adott MMC-koncentrációval rendelkező tápközeget eltávolítottuk, és meghatároztuk az IC₅₀-értékeket (1. táblázat). Az eredmények alapján megállapíthatjuk, hogy az összes MMC-tartalmú minta nyilvánvaló daganatellenes hatást mutatott, ugyanis a mért IC₅₀-értékek 0,014 ± 0,001 és 0,054 ± 0,029 mg/ml között változtak. A kapszulázott minták IC₅₀-értékei minden esetben nagyon hasonlóak voltak a tiszta MMC értékéhez, ami azt jelzi, hogy sem az MMC polimerrel való konjugációja, sem a hatóagnak a részecskékből való kioldódása nem okozott kedvezőtlen változást a gyógyszer hatásában (1. táblázat).

1. táblázat Hep-2c tumorsejtvonalon daganatellenes vizsgálatok során a kapszulázott és a tiszta MMC-ből felszabaduló, spektrofotometriásan mért MMC IC₅₀-koncentráció-értékei

Minta	1. nap		3. nap		5. nap		7. nap	
	konc (mg/ml)	IC ₅₀ (mg/ml)	konc (mg/ml)	IC ₅₀ (mg/ml)	konc (mg/ml)	IC ₅₀ (mg/ml)	konc (mg/ml)	IC ₅₀ (mg/ml)
Szabad MMC	0,254	0,029 ± 0,001	0,270	0,041 ± 0,002	0,273	0,026 ± 0,006	0,275	0,05 ± 0,045
Kontroll	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
PVA-MMC (3%)	0,063	0,014 ± 0,001	0,140	0,022 ± 0,007	0,173	0,043 ± 0,025	0,188	0,054 ± 0,029
PVA-MMC (21%)	0,029	0,037 ± 0,004	0,065	0,038 ± 0,01	0,089	0,039 ± 0,007	0,097	0,029 ± 0,004

konc = koncentráció; MMC = mitomicin C; PVA = poli(vinil-alkohol)

A ciszplatintartalmú hatóanyagot leadó nanorészecskék szintézise

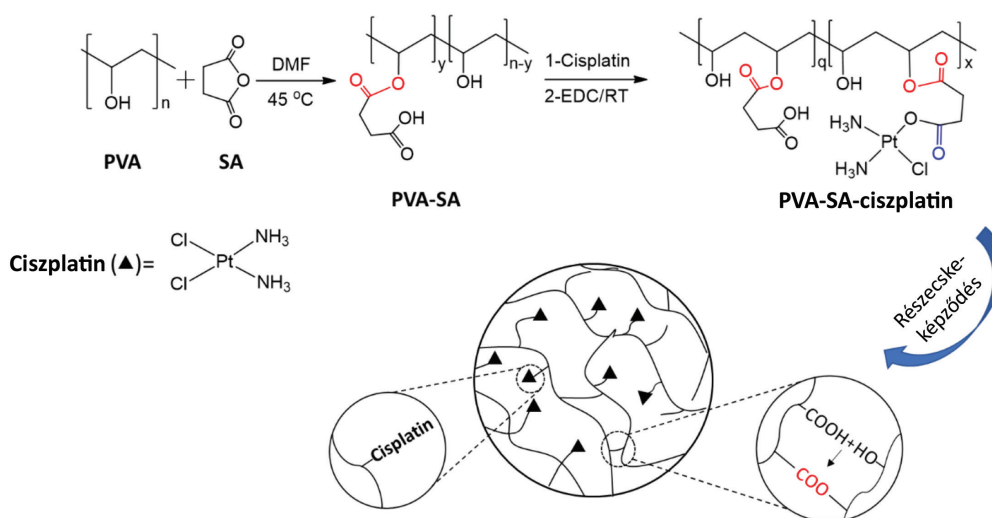
A ciszplatin hatóanyagot tartalmazó, polimeralapú DDS-t ugyanazzal a stratégiával állítottuk elő, mint amelyet a fentiekben ismertettünk (3. ábra). Amint a 3. ábrán látható, a kiindulási PVA-t a jelen esetben is borostyánkősav-anhidriddel módosítottuk, hogy karboxilált PVA-SA-t kapjunk (a karboxilálási fok 21,5% volt). Az OH- és COOH-csoportok között kialakuló észterkötések révén a lineáris makromolekulából önszerveződő módon részecskék képződtek. A sikeres reakciókat a jelen esetben is FTIR-mérésekkel igazoltuk, illetve a ciszplatin hatóanyag sikeres konjugációját EDX-mérésekkel támasztottuk alá (4. ábra). A ciszplatintartalmú PVA-SA-részecskék platina-, klór- és nitrogéntartalom megjelenését mutatják a PVA-SA-hoz képest, ami megerősíti a ciszplatin hatóanyag PVA-SA-hoz való kötődését.

A ciszplatin hatóanyag kioldódása

A tiszta (becsomagolatlan) formájából felszabaduló kumulatív ciszplatin és a polimeralapú DDS-ből felszabaduló hatóanyag kioldódási profilja az 5. ábrán látható. A tiszta ciszplatinból való felszabadulás túlságosan gyors volt, a maximális felszabadulási mennyiség 100%. A ciszplatinnak a polimerlánccal való konjugálása miatt azonban a polimeralapú DDS-ből történő felszabadulása lassú folyamat volt, a maximális felszabadulási mennyiség mindössze 20%-nak adódott 2 hét után.

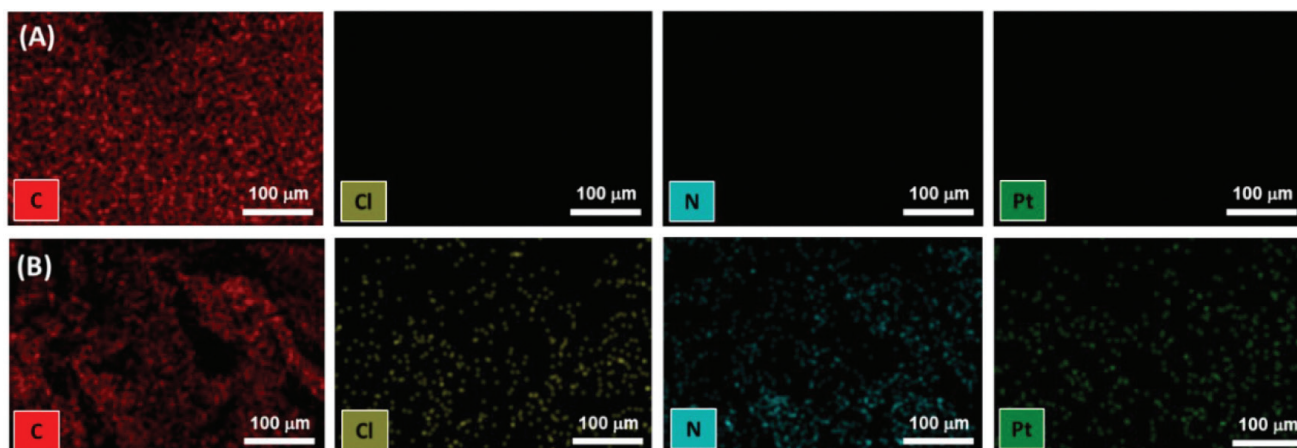
A PVA-ciszplatin daganatellenes hatása

Vizsgáltuk a becsomagolatlan ciszplatin és a kötött DDS-ből (PVA-ciszplatin) felszabaduló hatóanyag daganatellenes hatását is *in vitro* Hep-2 gégeráksejtvonalon. Az eredmények alapján elmondható, hogy a mindkét cisz-



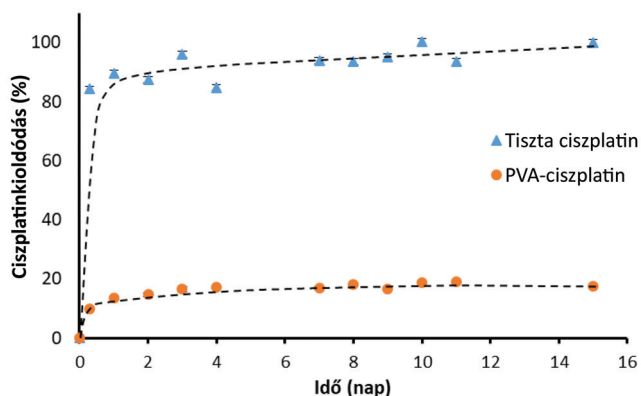
3. ábra A ciszplatintartalmú, módosított PVA polimeren alapuló DDS szintézisének vázlata

DMF = dimetil-formamid; EDC/RT = 1-(3-dimetil-amino-propil)-3-etil-karbodiimid-hidroklorid szobahőmérsékleten; PVA = poli(vinil-alkohol); PVA-SA = szukcinált poli(vinil-alkohol)



4. ábra A PVA-SA és a ciszplatintartalmú PVA-SA polimeren alapuló rendszerek EDX-mérései

EDX = energiadiszipatív röntgenspektroszkópia; PVA-SA = szukcinált poli(vinil-alkohol)

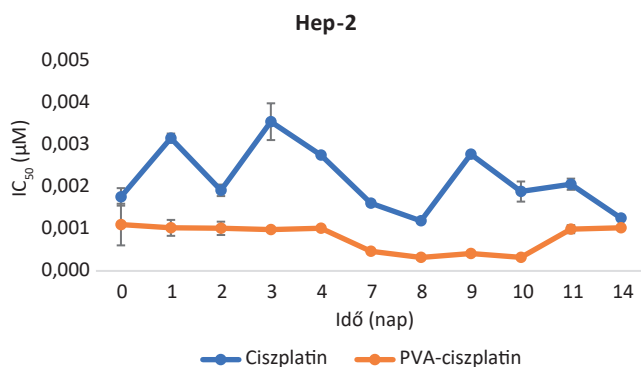


5. ábra A ciszplatin hatóanyag *in vitro* felszabadulása tiszta formájából és polimeralapú hatóanyag-leadó rendszerből
PVA = poli(vinil-alkohol)

platin-vegyületforma Hep-2 sejtvonalon a 14 napos periódus alatt kifejtette a várt daganatellenes hatást. Már az 1. naptól kezdve alacsonyabb IC_{50} -érték volt megfigyelhető a kötött ciszplatin esetében, szemben a tiszta formával, mely a 4. naptól folyamatosan csökkent, majd a 2 hetes periódus végén ismét emelkedett (szignifikánsan ingadozó IC_{50} -értékeket láthatunk) (6. ábra). Az *in vitro* gyógyszerleadási kísérleteket 14 napon keresztül végeztük.

Megbeszélés

A DDS gyakran olyan, polimeralapú (például PVA/cellulóz) kompozit, mely biokompatibilis (a szervezetre nem káros alapanyagokból tevődik össze) és biodegradálható (a hordozott hatóanyag leadása után eliminálódik a szervezetből). Fontos tulajdonsága, hogy a szervezetbe egyszeri alkalommal történő bevitele után a DDS-ben lévő hatóanyag a hatását hosszabb ideig ki tudja fejteni, tehát a DDS elnyújtott hatóanyag-leadásra képes. Emellett a DDS-ből a hatóanyag-felszabadulás nemcsak el-



6. ábra Hep-2c tumorsejtvonalon daganatellenes vizsgálatok során a kapszulázott és a tiszta ciszplatin spektrofotometriásan mért IC_{50} -koncentráció-értékei
PVA = poli(vinil-alkohol)

nyújtott, azaz például 14 napig tartó, hanem koncentrációfüggő is, tehát ismert időegység alatt ismert koncentrációjú hatóanyag-mennyiség kerül a gyógyítandó szervterületre. Továbbá a DDS a célzott területre való juttatása után lokalizált gyógyszer-felszabadulást tud biztosítani, így megelőzve a szisztémás mellékhatásokat vagy más szervek károsodását. A célzott területre való hatóanyag-felszabadulás alacsonyabb dózis felhasználásával is elérheti a kívánt terápiás célt, és ezáltal nem mellelesleg kevesebb mellékhatást hoz létre.

A DDS-alapú nanokapszulázásnak a szabályozott gyógyszer-felszabadulás területén olyan előnyei vannak, mint az alacsonyabb hatóanyag-dózis, a mellékhatások csökkenése, a fokozott biológiai hozzáférhetőség, a nagy hordozókapacitás, a nagy stabilitás, melyek végeredményben jobb kezelési teljesítményt szolgáltatnak. A DDS-ek fontos előnye továbbá, hogy könnyen módosíthatók [33], hogy ezáltal megfeleljenek a gyógyszeradagolás, a kezelési feltételek, az alkalmazási terület és a beteg szükségleteinek, így a maximális terápiás hatás érhető el.

A szakirodalomból ismerjük például az MMC nano- vagy mikrorészecskébe – például dextránba [34, 35], albuminba [36], poli(butil-cianoakrilát)-ba [37], ösztradiolba [38], hidrogélekbe [39] – történő kapszulázását. A fent említett DDS-ek fontos hiányossága, hogy gyorsan lebomlanak a szervezetben.

A kísérleteinkben alkalmazott PVA egy biokompatibilis, biológiailag lebomló szintetikus polimer, amely jó mechanikai tulajdonságokkal rendelkezik, könnyen módosítható, ezért kiváló alapot biztosít a DDS-hez. A PVA az orvosi biológiai alkalmazásai (például gyógyszeradagoló eszközök, kontaktlencsék, sebgyógyulást elősegítő kötszerek) mellett jelentős szerepet tölt be az elektronikában [40], a kozmetikában (például bőr- és testápolás) [41], és gyakran használják szövetmérnöki célokra, mint például mesterséges porc-, ér- és csontszövet gyártására [42–49].

A kísérleteinkben alkalmazott, MMC és ciszplatin hatóanyagot tartalmazó, módosított polimerrel a hatóanyag felszabadulási sebessége jelentősen meghosszabbítható volt, továbbá a felszabaduló hatóanyag mennyisége és kinetikája a szintézis körülményei szerint volt hangolható (2. és 5. ábra).

A fent említett jellemzők mellett a PVA mukoadhézív/bioadhézív tulajdonságokkal is rendelkezik (azaz nyálkahártya-felzínéhez képes tapadni): ez a gyógyszer-felszabadulás folyamata során szintén fontos szempont, mivel megnöveli a gyógyszer és a biológiai szubsztát közötti érintkezési időt, ami elősegíti a gyógyszer felszívódását, és a szervezet meghatározott helyeihez kapcsolódva fokozza a gyógyszer biológiai hozzáférhetőségét [50, 51]. A mukoadhézív gyógyszeradagoló rendszerek úgy is módosíthatók, hogy kifejezetten az orális, buccalis, ocularis vagy nasalis beadási módokat célozzák meg [52].

A mukoadhézív DDS-ek közül a tiolált polimerek a leghatékonyabbak, mivel a hidrogénkötéseken és a Van

der Waals-féle erőkön túl a nyálkahártya-gélréteg ciszteinben gazdag aldóménjeivel kovalens kötések (diszulfidkötéseket) alakíthatnak ki, ezáltal növelik a gyógyszer tartózkodási idejét, és fokozzák a biológiai hozzáférhetőséget [53].

Összefoglalva tehát, a PVA a jó mechanikai tulajdonságainak, biológiai lebonthatóságának, biokompatibilitásának és könnyű módosíthatóságának köszönhetően megfelelő alapot biztosít a polimeralapú DDS-ek tervezéséhez és alkalmazásához. A biokompatibilis PVA rendelkezik az FDA jóváhagyásával az emberi szervezetben való *in vivo* alkalmazásokhoz és klinikai felhasználásokhoz [54–56]. A PVA klinikai vizsgálatai megerősítették a biztonságosságot és a biokompatibilitást káros mellékhatások, szövetvesztés és citotoxicitás nélkül [54].

A csomagolt MMC és ciszplatin hatóanyagok Hep-2 gégeráksejtvonalon végzett antiproliferatív hatásának vizsgálata során igazolódott, hogy a polimerrészecskék hatékonyan képesek megtapadni a nyálkahártyákon, és az elnyújtott felszabadulás miatt az MMC és a ciszplatin rákellenes hatása hosszú ideig kifejezhető (1. táblázat és 6. ábra).

Megállapíthatjuk tehát, hogy a fentiekben bemutatott, önszerveződő részecskéképző képességgel és mukoadhezív tulajdonságokkal rendelkező, polimeralapú nanorészecskék (1. ábra) alkalmasak az MMC hatóanyag becsomagolására és nyújtott leadására, így a gyógyszer súlyos mellékhatásai potenciálisan csökkenthetők. A polimeralapú DDS-ből kioldódó MMC rákellenes hatása minden esetben nagyon hasonló volt a tiszta MMC értékéhez, ami azt jelenti, hogy az MMC hatását nem befolyásolta a polimerrel való konjugáció és a részecskéből történő kioldódás (1. táblázat).

A ciszplatin kapszulázásával olyan hatékony gyógyszerleadó rendszert hoztunk létre (3. ábra), amely több napon keresztül egyenletes dózisban tudta felszabadítani a hatóanyagot, így egyenletesebb hatást tudott kialakítani. A kapszulázással biztosítható volt a kívánt hatékony koncentráció, amely jóval alacsonyabb volt, mint a ciszplatin szabad formájú hatékony koncentrációja. Az alacsonyabb koncentráció kevesebb mellékhatást jelent a szervezet számára, különösen, hogy ismert a citosztatikumok normálszöveteket károsító hatása is.

Következtetés

A fej-nyaki onkológiai kezelés nagyon komplex feladat, így a már meglévő kezelési lehetőségek újragondolása is fokozhatja az eredményességet. Munkánkban a már ismert kemoterapeutikumok hatékonyságát szeretnénk volna fokozni és mellékhatásaikat csökkenteni egy új, nanotechnológiai alapú gyógyszerbeviteli önszerveződő rendszer kialakításával.

Az elkészített, erős mukoadhezív és önszerveződésre képes tulajdonságokkal rendelkező konjugált részecskék alkalmasak a ciszplatin és az MMC hatóanyagok tartózkodási idejének növelésére az emberi szervezetben.

Az elnyújtott, koncentrációfüggő hatóanyag-leadásnak köszönhetően a ciszplatin és az MMC kisebb dózisa is létrehozza a kívánt daganatellenes hatást. A kisebb dózissal és az erős mukoadhezivitás következtében kialakítható lokális felhasználással csökkenteni tudjuk a kemoterapeutikumok erős mellékhatásait, ugyanis az egyenletes kioldódás eredményeként a hatóanyag egyenletes diffúziója érhető el a célszervben. Így a rendszer helyi alkalmazásával egyfajta lokális kemoterápiát alakíthatunk ki, amely a citosztatikumok szisztémás hatását is csökkenti: biokompatibilitásuk miatt a szervezetre nem fejtenek ki káros hatást, biodegradabilitásuk következtében a hatóanyag leadását követően eliminálódnak a szervezetből. Így az általunk kifejlesztett új nanotechnológiás gyógyszerleadási rendszer egy új, eredményes daganatellenes kezelési formává válhat.

Anyagi támogatás: A cikk „OTKA K 132 446” pályázati támogatásban részesült.

Szerzői munkamegosztás: Sz. D. az alapötlet megfogalmazásában, a kísérletes munka elvégzésében, az eredmények értékelésében, a cikk megírásában vett részt. S. G., J. L., Sz. L., Cs. M., R. L. az alapötlet megfogalmazásában, az eredmények értékelésében, a cikk korrektúrájában, Cs. M. Jr., M. A., T. T. a kísérletes munka elvégzésében tevékenykedett. A kézirat elkészítésében minden szerző részt vett. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

Érdekltségek: A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

Irodalom

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015; 136: E359–E386.
- [2] National Cancer Registry. [Nemzeti Rákregiszter.] Available from: <https://onkol.hu/nemzeti-rakregiszter/> [accessed: 25 Nov, 2023]. [Hungarian]
- [3] Wéber A, Szatmári I, Dobozi M, et al. Comparison of Hungarian Central Statistical Office's causes of death data with the database of the Hungarian National Cancer Registry. Lessons from a record linkage. [A Központi Statisztikai Hivatal halálozási adatainak összevetése a Nemzeti Rákregiszter adatbázisával. Egy adatösszekapcsolás tanulságai.] *Orv Hetil.* 2022; 163: 1481–1489. [Hungarian]
- [4] Orosz E, Gombos K, Petrevszky N, et al. Visualization of mucosal field in HPV positive and negative oropharyngeal squamous cell carcinomas: combined genomic and radiology based 3D model. *Sci Rep.* 2020; 10: 40. Erratum: *Sci Rep.* 2020; 10: 5664.
- [5] Jethwa AR, Khariwala SS. Tobacco-related carcinogenesis in head and neck cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2017; 36: 411–423.
- [6] Johnson DE, Burtneß B, Leemans CR, et al. Head and neck squamous cell carcinoma. *Nat Rev Dis Primers* 2020; 6: 92.
- [7] McDermott JD, Bowles DW. Epidemiology of head and neck squamous cell carcinomas: impact on staging and prevention strategies. *Curr Treat Options Oncol.* 2019; 20: 43.

- [8] Tumban E. A current update on human papillomavirus-associated head and neck cancers. *Viruses* 2019; 11: 922.
- [9] Mesia R, Iglesias L, Lambea J, et al. SEOM clinical guidelines for the treatment of head and neck cancer (2020). *Clin Transl Oncol.* 2021; 23: 913–921. Erratum: *Clin Transl Oncol.* 2021; 23: 1001.
- [10] Plavc G, Strojjan P. Combining radiotherapy and immunotherapy in definitive treatment of head and neck squamous cell carcinoma. Review of current clinical trials. *Radiol Oncol.* 2020; 54: 377–393.
- [11] Ferenczi Ö, Major T, Takácsi-Nagy Z. The role of brachytherapy in the curative treatment of oral cavity tumors. [A brachytherápia szerepe az ajak-szájúregi daganatok kuratív ellátásában.] *Orv Hetil.* 2021; 162: 1471–1479. [Hungarian]
- [12] Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol.* 2014; 740: 364–378.
- [13] Makovec T. Cisplatin and beyond: molecular mechanisms of action and drug resistance development in cancer chemotherapy. *Radiol Oncol.* 2019; 53: 148–158.
- [14] Zhang C, Xu C, Gao X, et al. Platinum-based drugs for cancer therapy and anti-tumor strategies. *Theranostics* 2022; 12: 2115–2132.
- [15] Wang X, Zhou Y, Wang D, et al. Cisplatin-induced ototoxicity: from signaling network to therapeutic targets. *Biomed Pharmacother.* 2023; 157: 114045.
- [16] Qi L, Luo Q, Zhang Y, et al. Advances in toxicological research of the anticancer drug cisplatin. *Chem Res Toxicol.* 2019; 32: 1469–1486.
- [17] Szabó D, Kovács D, Endresz V, et al. Antifibrotic effect of mitomycin-C on human vocal cord fibroblasts. *Laryngoscope* 2019; 129: E255–E262.
- [18] Snodgrass RG, Collier AC, Coon AE, et al. Mitomycin C inhibits ribosomal RNA: a novel cytotoxic mechanism for bioreductive drugs. *J Biol Chem.* 2010; 285: 19068–19075.
- [19] Miranda MB, Hartmann JT, Al-Batran SE, et al. Mitomycin C and capecitabine in pretreated patients with metastatic gastric cancer: a multicenter phase II study. *Cancer Res Clin Oncol.* 2014; 140: 829–837.
- [20] Ospovat I, Siegelmann-Danieli N, Grenader T, et al. Mitomycin C and vinblastine: an active regimen in previously treated breast cancer patients. *Tumori* 2009; 95: 683–686.
- [21] Zhou W, Liu J, Mao D, et al. The clinical efficacy and safety of equipment-assisted intravesical instillation of mitomycin C after transurethral resection of bladder tumour in patients with non-muscular invasive bladder cancer: a meta-analysis. *PLoS ONE* 2022; 17: e0276453.
- [22] Merritt SR, Velasquez G, von Recum HA. Adjustable release of mitomycin C for inhibition of scar tissue formation after filtration surgery. *Exp Eye Res.* 2013; 116: 9–16.
- [23] Teus MA, de Benito-Llopis L, Alió JL. Mitomycin C in corneal refractive surgery. *Surv Ophthalmol.* 2009; 54: 487–502.
- [24] Stewart CE 4th, Kim JY. Application of mitomycin-C for head and neck keloids. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2006; 135: 946–950.
- [25] Haque Y, Kikuchi E, Kanemitsu T, et al. NII-electronic library service. *Chem Pharm Bull.* 1986; 34: 430–433.
- [26] Crooke ST, Bradner WT. Mitomycin C: a review. *Cancer Treat Rev.* 1976; 3: 121–139.
- [27] Abdelghafour MM, Deák A, Szabó D, et al. Use of self-assembled colloidal prodrug nanoparticles for controlled drug delivery of anticancer, antifibrotic and antibacterial mitomycin. *Int J Mol Sci.* 2022; 23: 6807.
- [28] Korsmeyer RW, Gurny R, Doelker E, et al. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int J Pharm.* 1983; 15: 25–35.
- [29] Rahim H, Khan MA, Badshah A, et al. Evaluation of prunus domestica gum as a novel tablet binder. *Braz J Pharmaceutical Sci.* 2014; 50: 195–202.
- [30] Kumar U, Islam S, Halder S, et al. Assessment of once daily sustained release hydrophilic matrix tablet of carvedilol. *Dhaka Univ J Pharmaceutical Sci.* 2017; 16: 43–53.
- [31] Freichel OL, Lippold BC. A new oral erosion controlled drug delivery system with a late burst in the release profile. *Eur J Pharm Biopharm.* 2000; 50: 345–351.
- [32] Sackett CK, Narasimhan B. Mathematical modeling of polymer erosion: consequences for drug delivery. *Int J Pharm.* 2011; 418: 104–114.
- [33] Fung LK, Saltzman WM. Polymeric implants for cancer chemotherapy. *Adv Drug Deliv Rev.* 1997; 26: 209–230.
- [34] Nomura T, Saikawa A, Morita S, et al. Pharmacokinetic characteristics and therapeutic effects of mitomycin C-dextran conjugates after intratumoural injection. *J Control Release* 1998; 52: 239–252.
- [35] Cheung RY, Ying Y, Rauth AM, et al. Biodegradable dextran-based microspheres for delivery of anticancer drug mitomycin C. *Biomaterials* 2005; 26: 5375–5385.
- [36] Cumming J, Allan L, Smyth JF. Encapsulation of mitomycin C in albumin microspheres markedly alters pharmacokinetics, drug quinone reduction in tumour tissue and antitumour activity. Implications for the drugs' in vivo mechanism of action. *Biochem Pharmacol.* 1994; 47: 1345–1356.
- [37] Xi-Xiao Y, Jan-Hai C, Shi-Ting L, et al. Polybutylcyanoacrylate nanoparticles as a carrier for mitomycin C in rabbits bearing VX2-liver tumor. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2006; 46: 211–217.
- [38] Ishiki N, Onishi H, Machida Y. Evaluation of antitumor and toxic side effects of mitomycin C-estradiol conjugates. *Int J Pharm.* 2004; 279: 81–93.
- [39] Liu Y, Li H, Shu XZ, et al. Crosslinked hyaluronan hydrogels containing mitomycin C reduce postoperative abdominal adhesions. *Fertil Steril.* 2005; 83(Suppl 1): 1275–1283.
- [40] Chaudhuri B, Mondal B, Ray SK, et al. A novel biocompatible conducting polyvinyl alcohol (PVA)-polyvinylpyrrolidone (PVP)-hydroxyapatite (HAP) composite scaffolds for probable biological application. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2016; 143: 71–80.
- [41] Zanin MH, Cerize NN, de Oliveira AM. Production of nanofibers by electrospinning technology: overview and application in cosmetics. In: Beck R, Guterres S, Pohlmann A. (eds) *Nanocosmetics Nanomedicines*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2011; pp. 311–332. Available from: https://doi.org/10.1007/978-3-642-19792-5_16 [accessed: 25 Nov, 2023].
- [42] Thomas LV, Arun U, Remya S, et al. A biodegradable and biocompatible PVA-citric acid polyester with potential applications as matrix for vascular tissue engineering. *J Mater Sci Mater Med.* 2009; 20(Suppl 1): S259–S269.
- [43] Leone G, Consumi M, Greco G, et al. A PVA/PVP hydrogel for human lens substitution: synthesis, rheological characterization, and in vitro biocompatibility. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2011; 97B: 278–288.
- [44] Picone P, Sabatino MA, Ajovalasit A, et al. Biocompatibility, hemocompatibility and antimicrobial properties of xyloglucan-based hydrogel film for wound healing application. *Int J Biol Macromol.* 2019; 121: 784–795.
- [45] Yan E, Fan Y, Sun Z, et al. Biocompatible core-shell electrospun nanofibers as potential application for chemotherapy against ovary cancer. *Mater Sci Eng C.* 2014; 41: 217–223.
- [46] Kamoun EA, Kenawy E-RS, Tamer TM, et al. Poly (vinyl alcohol)-alginate physically crosslinked hydrogel membranes for wound dressing applications: characterization and bio-evaluation. *Arabian J Chem.* 2015; 8: 38–47.
- [47] Noguchi T, Yamamuro T, Oka M, et al. Poly (vinyl alcohol) hydrogel as an artificial articular cartilage: evaluation of biocompatibility. *J Appl Biomater.* 1991; 2: 101–107.
- [48] Manavitehrani I, Rabiee M, Parviz M, et al. Preparation, characterization and controlled release investigation of biocompatible

- pH-sensitive PVA/PAA hydrogels. *Macromol Symp.* 2010; 296: 457–465.
- [49] Ikeuchi-Takahashi Y, Ishihara C, Onishi H. Evaluation of polyvinyl alcohols as mucoadhesive polymers for mucoadhesive buccal tablets prepared by direct compression. *Drug Dev Ind Pharm.* 2017; 43: 1489–1500.
- [50] Peppas NA, Mongia NK. Ultrapure poly(vinyl alcohol) hydrogels with mucoadhesive drug delivery characteristics. *Eur J Pharm Biopharm.* 1997; 43: 51–58.
- [51] Singh I, Rana V. Techniques for the assessment of mucoadhesion in drug delivery systems: an overview. *J Adhes Sci Technol.* 2012; 26: 2251–2267.
- [52] Leitner V, Walker G, Bernkop-Schnürch A. Thiolated polymers: evidence for the formation of disulphide bonds with mucus glycoproteins. *Eur J Pharm Biopharm.* 2003; 56: 207–714.
- [53] Albrecht K, Zirm EJ, Palmberger TF, et al. Preparation of thiomeric microparticles and in vitro evaluation of parameters influencing their mucoadhesive properties. *Drug Dev Ind Pharm.* 2006; 32: 1149–1157.
- [54] Baker MI, Walsh SP, Schwartz Z, et al. A review of polyvinyl alcohol and its uses in cartilage and orthopedic applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2012; 100: 1451–1457.
- [55] Chong SF, Smith AA, Zelikin AN. Microstructured, functional PVA hydrogels through bioconjugation with oligopeptides under physiological conditions. *Small* 2013; 9: 942–950.
- [56] Tadavarthy SM, Moller JH, Amplatz K. Polyvinyl alcohol (Ivalon) – a new embolic material. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med.* 1975; 125: 609–616.

(Szabó Diána dr.,
Szeged, Tisza Lajos krt. 111., 6725
e-mail: diniklinik@freemail.hu)

Pályázati felhívás

A Prof. Dr. Romics László Akadémikus Emlékére Alapítvány és a Kútvölgyi Klinika Alapítvány közösen pályázatot hirdet Magyarországon dolgozó, magyar állampolgárságú, 40 éven aluli orvosok és orvos- biológiai kutatással foglalkozó személyek számára.

A pályázat célja: a klinikai gyógyítás, vagy orvosi tudományos kutatás területén dolgozók kiemelkedő tudományos tevékenységének elismerése.

Előnyt élveznek azok a pályázók, akik az Alapítvány névadójának munkásságát folytatva kardiovaszkuláris és anyagcsere betegségek területéről nyújtanak be pályázatot.

A pályázat benyújtásának határideje: **2024. május 1.** (elbírálásának határideje: 2024. május 20.)
A Kuratórium által odaítélésre kerülő díj: I. helyezett nettó 250 000 Ft. II. díj nettó 150 000 Ft,
III. helyezett nettó 100 000 Ft.

A pályázatot a palyazat@romicsalapitvany.hu e-mail címre elektronikus aláírással ellátva (ügyfélkapuval létrehozott AVDH aláírás is megfelelő), PDF formátumban kell benyújtani.

A pályázatot természetes személy, saját nevében, magyar nyelven nyújthatja be, a pályázati anyag ábrák nélkül maximum 10.000 leütés (karakter) terjedelmű lehet. A PDF fájl mérete nem haladhatja meg a 25 MB-ot. A pályázathoz a fentiekhez azonos módon, külön PDF formátumú fájlban mellékelni kell rövid szakmai életrajzot, a születési idő, lakcím és telefon elérhetőségek megjelölésével. A szakmai önéletrajz végén nyilatkozni kell, hogy a pályázó a közölt személyes adatoknak a Romics Alapítvány által történő kezeléséhez hozzájárul, tudomásul veszi, hogy a Kuratórium minden tagja megismerheti adatait és pályázatát. A pályázatot papíron kinyomtatott formában **nem kell** megküldeni.

Az Alapítvány adatairól, működéséről az alapítvány honlapján – www.romicsalapitvany.hu – található információ.