

Особенности биораспределения наночастиц золота *in vivo*

Ю.А. Финогенова¹, А.А. Липенгольц^{1, 2}, В.А. Скрибичский^{1, 2}, К.Е. Шпакова^{1, 2},
А.В. Смирнова^{1, 3}, Н.Н. Сычева², Е.Ю. Григорьева¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина
115522, г. Москва, Каширское шоссе, 23

² Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»
115409, г. Москва, Каширское шоссе, 31

³ Московский Клинический научный центр им. А.С. Логинова Департамента здравоохранения
г. Москвы
111123, г. Москва, шоссе Энтузиастов, 86

Резюме

Наночастицы золота обладают уникальными физическими, химическими и оптическими свойствами, благодаря чему на их основе разрабатывают перспективные лекарственные средства: радиосенсибилизаторы, рентгеноконтрастные препараты, агенты для фототермической терапии, лекарственные средства направленной доставки. При этом в каждом случае выбор параметров наночастиц обусловлен не только областью применения, но и характером биораспределения в живом организме: длительностью циркуляции в кровотоке и способностью накапливаться в целевых органах и тканях, включая опухоль. Для этого наночастицы должны избегать фагоцитоза макрофагами печени. Целью данного обзора послужила систематизация информации о влиянии параметров наночастиц золота на их фармакокинетические свойства и биораспределение в организме мелких лабораторных животных, как интактных, так и с трансплантированной опухолью. Рассмотрены такие параметры наночастиц, как размер, стабилизирующее покрытие, форма. Наночастицы меньшего размера, как правило, дольше циркулируют в кровотоке и медленнее накапливаются в печени животного. Для защиты от агрегации, опсонизации и фагоцитоза используют различные варианты покрытия наночастиц, например, цитрат, бычий сывороточный альбумин или полиэтиленгликоль. Влияние формы наночастиц на биораспределение до сих пор недостаточно изучено; предположительно, она имеет меньшее значение, чем размер и покрытие. В целом имеющиеся данные указывают на то, что оптимальными фармакокинетическими свойствами для биомедицинского применения обладают наночастицы золота с диаметром до 50 нм, имеющие экранирующее полимерное покрытие.

Ключевые слова: наночастицы золота, биораспределение, контрастные средства, радиосенсибилизаторы, опухоль, лабораторные животные, экспериментальная онкология.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-00446.

Автор для переписки: Финогенова Ю.А., e-mail: b-f.finogenova@yandex.ru

Для цитирования: Финогенова Ю.А., Липенгольц А.А., Скрибичский В.А., Шпакова К.Е., Смирнова А.В., Сычева Н.Н., Григорьева Е.Ю. Особенности биораспределения наночастиц золота *in vivo*. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2024;44(6):83–96. doi: 10.18699/SSMJ20240608

Biodistribution of gold nanoparticles *in vivo*

Yu.A. Finogenova¹, A.A. Lipengolts^{1, 2}, V.A. Skribitsky^{1, 2}, K.E. Shpakova^{1, 2}, A.V. Smirnova^{1, 3},
N.N. Sycheva², E.Yu. Grigorieva¹

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology
115522, Moscow, Kashirskoe hghw., 23

² National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute)
115409, Moscow, Kashirskoe hwy., 31

³ Moscow Clinical Scientific Center named after Loginov MHD
111123, Moscow, Entuziastov hwy., 86

Abstract

Gold nanoparticles have unique physical, chemical and optical properties, due to which they are used to develop promising drugs: radiosensitisers, X-ray contrast media, agents for photothermal therapy, drugs for targeted delivery. In each case, the choice of nanoparticle parameters is determined not only by the field of application, but also by the biodistribution in the living organism: blood circulation time and accumulation in target organs and tissues, including the tumor. For long blood circulation, nanoparticles should avoid phagocytosis by liver macrophages. The aim of this review was to systematise information on the influence of gold nanoparticle parameters on their pharmacokinetic properties and biodistribution in intact and tumor-bearing small laboratory animals. Size, shape and stabilising coating were considered. Smaller nanoparticles tend to circulate longer in the bloodstream and accumulate more slowly in the liver. Various coatings such as citrate, bovine serum albumin or polyethylene glycol are used to protect nanoparticles against aggregation, opsonisation and phagocytosis. The influence of nanoparticle shape on biodistribution is not completely understood; presumably, it is less important than size and coating. In general, the available data indicate that gold nanoparticles with a diameter of up to 50 nm with a polymer coating have optimal pharmacokinetic properties for biomedical application.

Key words: gold nanoparticles, biodistribution, contrast agents, radiosensitizers, tumor, laboratory animals, experimental oncology.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Financing. The study was funded by Russian Science Foundation project No 24-25-00446.

Correspondence author: Finogenova Yu.A., e-mail: b-f.finogenova@yandex.ru

Citation: Finogenova Yu.A., Lipengolts A.A., Skribitsky V.A., Shpakova K.E., Smirnova A.V., Sycheva N.N., Grigorieva E.Yu. Biodistribution of gold nanoparticles *in vivo*. *Sibirskij nauchnyj medicinskij zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2024;44(6):83–96. [In Russian]. doi: 10.18699/SSMJ20240608

Введение

Наночастицы золота широко используются в современных биомедицинских исследованиях благодаря своим уникальным физическим, химическим и оптическим свойствам. В различных областях экспериментальной онкологии они выступают в качестве агентов для фототермической терапии, радиосенсибилизаторов для лучевой терапии, рентгеноконтрастных веществ, платформ для направленной доставки лекарственных средств [1, 2]. При этом для успешного терапевтического применения наночастицы должны не только накапливаться в злокачественных новообразованиях в более высокой концентрации по сравнению с нормальными тканями, но и удерживаться в течение достаточно длительного времени. Это ставит перед исследователями задачу изучения динамики их накопления в опухолях различной природы и локализации. Кроме того, необходима информация о биораспределении наночастиц во внутренних органах и длительности удержания в них, а также о возможных путях экскреции из организма.

Основными параметрами, определяющими фармакокинетику и биораспределение наночастиц золота, являются размер, форма, свойства стабилизирующего покрытия, заряд поверхности, наличие в структуре таргетных (нацеливающих) агентов. Оптимальное сочетание данных параметров зависит от цели биомедицинского

применения. Например, в случае создания агентов для фототермической терапии выбор размера и формы определяется эффективностью поглощения лазерного излучения определенной длины волны. При этом с точки зрения биораспределения приходится идти на компромисс. Радиосенсибилизирующими свойствами обладают любые наночастицы золота. Единственное требование – успешное накопление в экспериментальной опухоли и удержание в течение времени, достаточного для проведения внешнего терапевтического облучения. Поэтому в многочисленных исследованиях *in vivo* в качестве потенциальных радиосенсибилизаторов рассматривались наночастицы различного размера, в диапазоне от 1 до 200 нм, и различной формы, иногда весьма причудливой.

Для большинства наночастиц характерно более или менее избирательное накопление в опухолевой ткани, которое определяется совокупностью механизмов под общим названием «усиленное проникновение и удержание» (enhanced permeation and retention, EPR). Согласно классическим представлениям, EPR-эффект обусловлен повышенной проницаемостью опухолевых сосудов, высоким уровнем васкуляризации опухолей и нарушением лимфооттока [3]. Вследствие локального повышения давления наночастицы проходят через множественные поры в стенках капилляров, выходят в опухолевую ткань и задерживаются в ней.

Впоследствии, на этапе клинических исследований наноразмерных лекарственных средств, обнаружена гетерогенность степени выраженности EPR-эффекта в опухолях различных типов: в некоторых он наблюдался, а в других – нет [4, 5]. Это привело к необходимости уточнить и частично пересмотреть факторы EPR-эффекта. Помимо транспорта наночастиц сквозь поры в стенках капилляров, показан значительный вклад активного эндоцитоза и трансцитоза клетками эндотелия [6]. Доказана роль опухоль-ассоциированных макрофагов и дендритных клеток в захвате наночастиц [7]. Предложены способы локального расширения опухолевых сосудов с целью повышения эффективности доставки наночастиц в злокачественные новообразования [8]. В целом EPR-эффект оказался сложным и комплексным явлением, изучение которого продолжается и в настоящее время. Выявленная гетерогенность проявления EPR-эффекта требует использования широкого спектра разнообразных опухолевых моделей для изучения динамики накопления наночастиц как в подкожных, так и ортотопических опухолях различной гистологической природы.

Накопление наночастиц в модельной опухоли нельзя рассматривать в отрыве от биораспределения в целом организме, поскольку в ситуации *in vivo* захват наночастиц опухолью и здоровыми внутренними органами – это конкурирующие процессы. Биораспределение существенно различается в зависимости от пути введения: ингаляционный приводит к задержке наночастиц в легких [9], пероральный – в органах желудочно-кишечного тракта [10]. Однако чаще всего в биомедицинских исследованиях применяется внутривенный путь введения.

Биораспределение наночастиц золота после внутривенной инъекции лабораторным животным может существенно различаться, однако общим правилом остается преимущественное накопление в печени. Главная роль в этом процессе принадлежит не гепатоцитам, а клеткам Купфера – резидентным макрофагам печени. При прохождении через синусоидные капилляры печени наночастицы фагоцитируются клетками Купфера и при электронной микроскопии визуализируются в лизосомах. Именно этот процесс определяет основной путь элиминации наночастиц из кровотока [11]. Помимо клеток Купфера, в удалении наночастиц могут участвовать макрофаги селезенки, костного мозга и циркулирующие в крови моноциты [12].

При внутривенном введении на биораспределение наночастиц в значительной мере влияет формирование так называемой белковой короны. Она состоит из белков плазмы крови, которые

адсорбируются на поверхности за счет электростатических, гидрофобных и ван-дер-ваальсовых сил. В белковую корону могут входить белки, как усиливающие (опсонины), так и подавляющие фагоцитоз (дезопсонины). К опсонинам, в частности, относятся компоненты системы комплемента, иммуноглобулины и фибронектин, а к дезопсонинам – альбумин, фибриноген и аполипопротеины. Конкретный состав короны зависит от концентрации различных белков в плазме крови и времени экспозиции, а также физико-химических параметров самих наночастиц [12].

Для успешного накопления в опухоли наночастицы должны достаточно длительно циркулировать в кровотоке. До настоящего времени не определена зависимость между временем полувыведения из крови и достижимой концентрацией золота в опухоли, но в целом ее наличие считается достаточно обоснованным. Каждый раз при прохождении порции крови через кровеносные сосуды, питающие опухоль, с определенной вероятностью некоторое число наночастиц выйдет за пределы кровеносного русла и проникнет в опухолевую ткань. Когда в крови наночастиц уже не осталось, то и накопление золота в опухоли прекращается.

Поскольку основной путь элиминации из кровотока – фагоцитоз макрофагами, с целью увеличения продолжительности циркуляции необходимо ингибировать данный процесс. Для этого используют частицы меньшего размера, применяют специальное экранирующее покрытие, изменяют заряд поверхности. Но, к сожалению, не всегда снижение фагоцитоза *in vitro* приводит к значимому изменению биораспределения *in vivo*. До настоящего времени неизвестны способы полностью избежать накопления наночастиц в печени. Можно лишь замедлить его, отодвинуть на несколько часов или даже суток, но в конечном итоге все равно большая часть наночастиц будет захвачена печенью. Попытки радикально изменить это на данный момент не привели к какому-либо приемлемому решению [13]. Тем не менее путем подбора наночастиц с оптимальным набором параметров можно удлинить время их циркуляции в кровотоке настолько, что концентрация золота в опухолевой ткани достигнет значения, достаточного для определенного вида терапии. Снизить захват здоровыми внутренними органами, пролонгировать время циркуляции в кровотоке и увеличить эффективность накопления в опухоли – задачи, для решения которых нужны выбор и модификация параметров наночастиц.

Целью данного обзора была систематизация информации о влиянии параметров наночастиц на особенности биораспределения *in vivo*. Для

достижения цели был выполнен поиск литературы в базах данных Google Scholar, eLIBRARY.ru, PubMed по ключевым словам «наночастицы золота + размер», «наночастицы золота + покрытие», «наночастицы золота + форма», «наночастицы золота + биораспределение», «усиленное проникновение и удержание», «EPR-эффект», «пассивное нацеливание», «активное нацеливание» (gold nanoparticles size, gold nanoparticles coating, gold nanoparticles shape, gold nanoparticles biodistribution, enhanced permeation and retention, EPR-effect, passive targeting, active targeting). Отобраны экспериментальные статьи и литературные обзоры, опубликованные с 2014 по 2024 г. Кроме того, в отдельных разделах упоминаются классические экспериментальные статьи 2008–2014 гг. в тех случаях, когда это необходимо для понимания ключевых выводов раздела.

Влияние размера наночастиц на биораспределение

В настоящий момент в отечественной и зарубежной литературе существует расхождение по вопросу о том, какого размера объекты можно называть наночастицами. В литературных источниках наночастица определяется как объект, имеющий размеры от 1 до 100 нм во всех измерениях [14]. Однако во многих исследованиях *in vitro* и *in vivo* используют наночастицы золота с диаметром 150–180 нм. По-видимому, в случае биомедицинского применения следует рассматривать наночастицы золота в диапазоне размеров от 1 до 200 нм. Наночастицы крупнее 200 нм используются крайне редко.

Взаимодействие с клетками наночастиц разного размера было детально исследовано *in vitro*. В работе [15] сферические наночастицы с диаметром 14, 30, 50, 74 и 100 нм инкубировали с клетками линии HeLa в среде с добавлением сыворотки. Частицы были покрыты цитратом, а добавление сыворотки обеспечивало формирование белковой короны. Полученная в результате зависимость интенсивности эндоцитоза от размера частиц была не линейной, а колоколообразной: клетки наиболее активно поглощали частицы с диаметром 50 нм, а частицы большего и меньшего размера – менее активно. Максимальное число наночастиц на одну клетку достигло: для 50 нм – 6160 шт., для 14 нм – 3000 шт., для 74 нм – 2988 шт. Однако в другой работе *in vitro* получены несколько отличающиеся результаты [16]. Поскольку в макроорганизме элиминация наночастиц происходит преимущественно клетками иммунной системы, авторы в качестве объекта исследования выбрали макрофаги мыши J774A.1 и варьировали не только размер, но и покрытие

наночастиц. В случае использования наночастиц без покрытия значимых отличий в интенсивности эндоцитоза не было выявлено. В случае же покрытия частиц полиэтиленгликолем (ПЭГ) зависимость была прямо пропорциональной: наиболее интенсивно захватывались наночастицы с размером 90 нм, наименее – 15 и 30 нм, частицы размером 60 нм занимали промежуточное положение.

Хотя результаты, полученные *in vitro*, нельзя прямо переносить на поведение наночастиц *in vivo*, известно, что после внутривенного введения они преимущественно накапливаются в печени за счет фагоцитоза резидентными макрофагами. Отчасти этим объясняется более активное накопление в печени животных крупных наночастиц. Например, в работе [17] исследовали биораспределение наночастиц золота с размером 6, 24, 43 или 61 нм после внутривенной инъекции здоровым мышам. Во все временные точки, от 4 ч до 90 сут, накопление наночастиц в печени коррелировало с их диаметром: наибольшим оно было для частиц размером 61 нм, наименьшим – для частиц размером 6 нм; через 24 ч после инъекции их концентрация в печени равнялась соответственно ~55 и ~6 % ID/г (процент введенной дозы на грамм ткани).

Активный фагоцитоз наночастиц происходит и в других органах, содержащих большое количество макрофагов. В частности, общим правилом является накопление их значительного количества в селезенке. В работе [18] наночастицы золота после внутривенного введения преимущественно накапливались в печени и селезенке мыши, по данным масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ICP-MS), при этом для обоих органов захват наночастиц размером 50 нм был более интенсивным, чем частиц диаметром 20 и 5 нм. Наночастицы вводили в дозе 0,5 мг Au/кг веса тела мыши. Через 24 ч после инъекции наночастиц размером 5, 20 и 50 нм в печени определялось ~4500, ~5200 и ~9500 нг/г золота соответственно. В селезенке содержание золота было ниже: ~1200, ~900 и ~4300 нг/г для тех же размеров наночастиц. Для сравнения, максимальное содержание золота в легких достигало ~116 нг/г, а для других органов было еще ниже.

Группа W.-S. Cho et al. показала значительное накопление и удержание наночастиц золота размером 4, 13 и 100 нм не только в печени и селезенке, но и в мезентериальном лимфатическом узле здоровых мышей. Для наночастиц размером 13 нм концентрация золота в период с 7 сут по 3 мес. в лимфатическом узле и печени была сравнимой [19]. Но поскольку печень гораздо больше селезенки и, тем более, лимфатических узлов,

элиминация наночастиц из кровотока определяется преимущественно ею.

В целом длительность циркуляции наночастиц в кровотоке обратно пропорциональна накоплению золота в печени: чем они больше, тем интенсивнее накапливаются в печени и тем быстрее выводятся из кровотока и наоборот. Поскольку золото – рентгеноплотное вещество, за распределением наночастиц в организме животного можно прижизненно неинвазивно наблюдать с помощью компьютерной томографии (КТ) [20]. В работе [21] мышам вводили наночастицы различного размера, от 4 до 152 нм, а затем выполняли КТ через 5 мин, 30 мин, 1 ч и 2 ч. Мелкие частицы размером 4 и 15 нм продолжали циркулировать в кровотоке в течение 2 ч (на КТ отмечалось контрастирование камер сердца и кровеносных сосудов), крупные (79, 100 и 152 нм) уже через 30 мин в кровотоке отсутствовали, так как полностью захватывались печенью и селезенкой. Наночастицы размером 50 нм циркулировали в кровотоке в течение 1 ч, а затем быстро накапливались в селезенке и несколько медленнее – в печени.

Длительная циркуляция мелких наночастиц приводит к тому, что они в относительно большей концентрации накапливаются в различных внутренних органах. W.H. de Jong et al. показали, что частицы размером 10 нм определялись в легких, яичках и тимусе крыс в концентрации 0,1–0,4 % ID, по данным ICP-MS, в то время как для наночастиц размером 100 и 250 нм накопление в этих органах было менее 0,1 % ID [22]. В классической работе G. Sonavane наночастицы размером 15 нм выявлялись в легких, почках и желудке мыши в значительно большей концентрации, чем 50, 100 и 200 нм [23]. Таким образом, для более крупных наночастиц характерно интенсивное накопление практически исключительно в печени и селезенке, а для мелких – распределение в различных внутренних органах.

Отдельно следует рассмотреть вопрос о накоплении наночастиц золота в головном мозге. В ряде работ различными методами показано, что после внутривенного введения наночастиц золото в крайне малом количестве определяется в мозге здоровых животных [24]. Это заставляет предполагать наличие некоего механизма, позволяющего наночастицам проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [25]. Как и в других органах, в мозге интенсивнее накапливаются более мелкие наночастицы. Например, в работе [26] частицы размером 1,4 нм, меченные ^{198}Au , обнаруживались в головном мозге крыс в концентрации ~0,064 % ID/г через 24 ч после внутривенной инъекции. Для более крупных наночастиц, от

5 до 80 нм, концентрация в мозге была на порядок меньше.

При росте интракраниальных опухолей происходит повреждение ГЭБ, поэтому в них наночастицы различного размера могут накапливаться в значительной концентрации. Например, в исследовании [27] наночастицы золота размером 11 нм избирательно накапливались в ортотопической глиоме мышей Tu-2449, что подтверждалось полученными КТ-изображениями. По данным атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ICP-AES), содержание золота в опухоли было в 18,8 раза больше, чем в здоровой ткани мозга. Избирательное накопление наночастиц золота вследствие повреждения ГЭБ позволяет использовать их как для диагностики, так и для терапии опухолей мозга [28, 29].

Как и в здоровых внутренних органах, в злокачественных новообразованиях любой локализации интенсивнее накапливаются наночастицы меньшего размера. Это связано, с одной стороны, с более длительным временем циркуляции в кровотоке, характерным для мелких наночастиц [30]. С другой стороны, мелкие частицы успешнее проникают сквозь стенку кровеносных капилляров и продвигаются глубже в опухолевую ткань [31]. Влияя на эффективность накопления в модельных опухолях, размер наночастиц определяет возможности их применения в экспериментальной онкологии. Например, в работе [32] в качестве радиосенсибилизаторов исследовали наночастицы размером 8, 50 или 187 нм. Препараты вводили внутривенно в дозировке 4 мг Au/кг мышам с подкожной карциномой H22 за 30 мин до терапевтического облучения в дозе 5 Гр. Через 19 сут торможение роста опухоли в группе «8 нм» составило 52 %, в группе «50 нм» – 58 %, а в группе «187 нм» динамика роста опухоли была такой же, как в контрольной облученной группе. Несмотря на то, что любые наночастицы золота обладают свойствами радиосенсибилизаторов, в эксперименте *in vivo* эти свойства проявили только частицы, размер которых позволил им накопиться в опухолевой ткани. В целом, сделанный авторами вывод подтверждается и в других работах: оптимальными фармакокинетическими свойствами *in vivo* обладают наночастицы с размером до 50 нм.

Наночастицы с гидродинамическим размером менее 5,5 нм проявляют уникальную способность проникать через поры гломерулярного фильтра почек и выводиться из организма с мочой. Почечная экскреция показана для наночастиц различного химического состава в экспериментах на мышах, крысах и приматах [33, 34]. Кроме того, и в клинических исследованиях наноразмерного

гадолинийсодержащего препарата AGuiX (размер частиц 4 нм) установлено, что наночастицы выводились с мочой из организма пациентов [35]. Наличие эффективного пути экскреции сокращает время удержания наночастиц в организме и снижает вероятность побочных эффектов.

Следует подчеркнуть, что пороговое значение 5,5 нм – это гидродинамический размер, который всегда больше, чем величина золотого ядра, поскольку он включает и стабилизирующее покрытие, и слой гидратации. Влияние гидродинамического размера иллюстрирует работа [36], в которой одинаковые наночастицы с величиной ядра около 1,5 нм покрывали в одном случае глутатионом (трипептид GSH, 307 Да), а в другом – бычьим сывороточным альбумином (БСА, ~69 кДа). Наночастицы, покрытые GSH, имели гидродинамический размер ~2,4 нм, покрытие БСА увеличивало его до ~6 нм. В течение 24 ч после внутрибрюшинной инъекции здоровым мышам в моче определялось суммарно 36 % ID наночастиц, покрытых GSH, и только 1 % ID – покрытых БСА. Через 28 сут после введения в организм мыши сохранялось 95 % ID наночастиц с БСА и только 6 % ID наночастиц с GSH. Таким образом, при одинаковом размере золотого ядра только наночастицы с гидродинамическим размером менее 5,5 нм эффективно выводились с мочой.

Хотя почечная экскреция, предположительно, снижает количество побочных эффектов от применения наночастиц в биомедицине, существует вопрос об эффективности их накопления в опухолевой ткани. Для более крупных наночастиц существует один основной путь элиминации из кровотока – фагоцитоз макрофагами печени, для мелких добавляется второй путь элиминации – выведение почками. Теоретически существование двух путей выведения может уменьшить время циркуляции наночастиц в кровотоке и снизить эффективность накопления в опухолях. Однако на практике в ряде исследований получены данные, свидетельствующие о том, что экскретируемые наночастицы имеют достаточное время циркуляции для самостоятельного накопления в опухолевой ткани. Например, в работе [37] при исследовании наночастиц, покрытых тиопропином, показано, что наночастицы с размером золотого ядра 2 нм дольше циркулировали в кровотоке мышей, чем более крупные (6 и 15 нм), а также успешнее накапливались в подкожной экспериментальной опухоли (ксенографт MCF-7S). Положительные результаты получила и группа X.-D. Zhang et al. в ряде экспериментов с золотыми нанокластерами с размером золотого ядра до 2 нм [38–40], которые не только интенсивно

накапливались в подкожной модельной опухоли у мышей (карцинома шейки матки U14), но и демонстрировали свойства радиосенсибилизаторов. Однако в этих работах использовался интраперитонеальный путь введения препарата, что затрудняет сравнение результатов с полученными другими группами авторов. Следует отметить, что несмотря на малый размер экскретируемых наночастиц, они все равно постепенно захватываются макрофагами. После фагоцитоза покрытие наночастиц разрушается ферментами макрофагов, и наночастицы агрегируют друг с другом, вследствие чего размер частиц увеличивается, и дальнейшая почечная экскреция уже невозможна.

Наночастицы крупнее 5,5 нм не могут эффективно выводиться почками, но при этом они в незначительном количестве определяются в моче лабораторных животных. Гломерулярная фильтрация для них невозможна, а изучение механизма проникновения наночастиц в мочу в настоящее время продолжается. В работе [41] исследован процесс экскреции наночастиц оксида железа (Fe_3O_4) с размером ядра ~36 нм и гидродинамическим размером ~139 нм с помощью прижизненной конфокальной микроскопии коркового слоя почек мышей. Обнаружено, что крупные наночастицы не фильтруются в почечных клубочках, а проникают в клетки канальцевого эпителия (преимущественно проксимального канальца) напрямую из почечного интерстиция. Конкретный механизм не вполне ясен, авторы предполагают, что это может быть трансцитоз клетками эндотелия и канальцевого эпителия. Логично предположить, что данный механизм может работать для различных металлических наночастиц, в том числе и для наночастиц золота.

Таким образом, можно резюмировать, что оптимальными фармакокинетическими свойствами для применения в экспериментальной онкологии обладают наночастицы размером не более 50 нм, более крупные слишком быстро захватываются печенью и элиминируются из кровотока, вследствие чего их накопление в опухолевой ткани в достаточном количестве затруднено. Вопрос о целесообразности применения мелких экскретируемых наночастиц (нанокластеров) с гидродинамическим размером <5,5 нм не решен окончательно, однако развитие данной области выглядит перспективно.

Влияние стабилизирующего покрытия наночастиц на биораспределение

В простом случае структура наночастицы золота включает металлическое ядро и стабилизирующее покрытие, защищающее их от агрегации в растворе. Следует отметить, что методом

лазерной абляции в деионизованной воде можно получать наночастицы золота без какого-либо покрытия, которые, обладая отрицательным зарядом поверхности, не агрегируют за счет сил электростатического отталкивания [42]. Однако концентрация золота в растворе при этом получается очень низкой (от 0,1 мг Au/мл), что недостаточно для биомедицинского применения *in vivo* [43]. При попытках концентрировать раствор методом центрифугирования или выпаривания такие наночастицы агрегируют.

При синтезе наночастиц золота классическим химическим методом Туркевича в качестве восстановителя используется цитрат натрия, в результате образуются сферические наночастицы, сразу покрытые цитратом [44]. Впоследствии цитратное покрытие можно заменить на вещество другой химической природы – например, тиолы, фосфины, амины, соединения кремния и полимеры [45]. Стабилизирующее покрытие не только защищает наночастицы от агрегации, но и влияет на фармакокинетические свойства, в частности, замедляя формирование белковой короны [46]. При синтезе наночастиц для биомедицинского применения используют варианты покрытия, которые защищают их от опсонизации и фагоцитоза, благодаря чему пролонгируется время циркуляции в кровотоке. На практике в биомедицинских исследованиях чаще других используются цитрат, ПЭГ или БСА.

Исследование [47] демонстрирует различия в фармакокинетических свойствах наночастиц, покрытых ПЭГ и БСА. Золотые наностержни с оболочкой из оксида кремния (SiO_2), суммарным размером 110×70 нм, модифицированные либо ПЭГ 2 кДа, либо БСА, вводили мышам внутривенно. Концентрацию золота в плазме крови оценивали методом ICP-MS в интервале времени от 1 мин до 24 ч. Наностержни с ПЭГ и БСА демонстрировали разное время полувыведения $t_{1/2\beta}$ (соответственно 6,32 и 0,75 ч) и, как следствие, разную эффективность накопления через 24 ч в подкожной модельной опухоли 4T1 (соответственно 0,83 и 0,45 % ID). Наблюдаемые различия можно объяснить тем, что покрытие изменяет гидродинамический размер и заряд поверхности наночастиц. Помимо более крупного размера молекулы альбумина по сравнению с ПЭГ, ζ -потенциал частиц, покрытых БСА, был отрицательным (–14,1 мВ), а покрытых ПЭГ – практически нейтральным (–0,06 мВ).

Для изучения влияния заряда поверхности наночастиц на биораспределение в работе [48] синтезировали частицы с размером золотого ядра 2 нм и различными вариантами полимерного покрытия: TEGOH (–1,1 мВ), TTMA (+24,4 мВ), TCOOH (–37,9 мВ) или Tzwt (–2,0 мВ, цвиттер-

ион с положительным и отрицательным полюсом, отрицательный заряд на внешней стороне покрытия). После внутривенного введения мышам наибольшее время полувыведения из кровотока было у нейтральных и цвиттер-ионных наночастиц (304 и 229 мин соответственно), у отрицательно заряженных оно составило 18 мин. Положительно заряженные наночастицы уже через 5 мин после инъекции определялись в крови мышей в 10 раз меньшей концентрации, чем нейтральные, т. е. их элиминация из крови происходила очень быстро. В подкожной опухоли (ксенографт CP-70) через 24 ч после инъекции нейтральные и цвиттер-ионные наночастицы накапливались в концентрации 20–25 мкг/г. Отрицательно заряженные наночастицы накапливались умеренно (до ~15 мкг/г), а содержание положительно заряженных не превышало 5 мкг/г.

Аналогичный результат получен и в работе [49]: через 24 ч после инъекции положительно заряженные наночастицы в большем количестве определялись в печени, селезенке и легких мышей, нейтральные в существенно большей концентрации выявлялись в крови и в меньшей – в печени, а отрицательно заряженные занимали промежуточное положение. В целом полученные результаты позволяют утверждать, что нейтральные наночастицы обладают оптимальными свойствами для биомедицинского применения.

На практике в абсолютном большинстве исследований *in vivo* покрытием наночастиц золота служит ПЭГ – водорастворимый неионный полимер, обеспечивающий нейтральный заряд частиц [50]. Обычно используют ПЭГ-тиол, цепи которого связываются с золотой поверхностью через SH-группу. Наночастицы, покрытые ПЭГ, гораздо более устойчивы к агрегации в солевом растворе, при этом они меньше опсонизируются сывороточными белками и дольше остаются невидимыми для макрофагов, что приводит к существенному замедлению их элиминации из кровотока. «Маскировка» наночастиц от клеток иммунной системы с помощью специального покрытия получила название «технология стелс» (stealth technology). Например, в работе [51] покрытие золотых наностержней ПЭГ (5 кДа) увеличило время их циркуляции в кровотоке мыши с 30 мин до 24 ч по сравнению со стержнями, покрытыми только цетилтриметиламмония бромидом.

В биомедицинских исследованиях в качестве покрытия наночастиц чаще других используется ПЭГ 5 кДа [52], однако встречаются варианты ПЭГ с другой молекулярной массой. В работе [31] последовательно изучено время полувыведения из кровотока наночастиц золота с диаметром золотого ядра от 18 до 87 нм и молекулярной массой

ПЭГ 2, 5 и 10 кДа. После внутривенной инъекции здоровым мышам, как и ожидалось, время полувыведения было обратно пропорционально размеру частиц. При одинаковом размере ядра медленнее элиминировались наночастицы с большей молекулярной массой ПЭГ. Максимальное время полувыведения (51 ч) демонстрировали частицы с наименьшим размером (18 нм), покрытые ПЭГ 10 кДа. Полученные результаты отчасти контринтуитивны: при одинаковом размере золотого ядра максимальное время циркуляции в кровотоке было у наночастиц с наибольшим гидродинамическим размером. Однако более длинные цепи ПЭГ лучше защищают наночастицы от опсонизации и фагоцитоза, таким образом увеличивая время до элиминации [53].

К сожалению, в физиологических условиях покрытие ПЭГ подвергается постепенной деградации. В частности, показано, что цистеин плазмы крови в физиологической концентрации может вытеснять цепи ПЭГ из связи с поверхностью золотой наночастицы. В конечном итоге это приводит к адсорбции белков на поверхности наночастицы, формированию белковой короны и распознаванию наночастиц макрофагами. Для предотвращения данного процесса в работе [54] предложено включать в структуру наночастицы алкильный линкер между ПЭГ и тиоловым фрагментом, однако на сегодняшний день эта технология не получила распространения.

Стабилизирующее покрытие предоставляет функциональные группы для присоединения к поверхности наночастиц других агентов: молекул лекарственных средств, радионуклидной или флуоресцентной метки, таргетных (нацеливающих) лигандов, антител или их фрагментов. Таргетные наночастицы активнее накапливаются в экспериментальных опухолях и, что особенно важно, длительно в них удерживаются [55, 56]. По данным метаанализа [57], присутствие в структуре наночастиц таргетных агентов повышало медиану накопления наночастиц в модельных солидных опухолях с 0,6 до 0,9 % ID. Поиск новых таргетных агентов и оценка эффективности накопления наночастиц в опухолях различной природы остаются актуальной задачей современной экспериментальной онкологии.

Влияние формы наночастиц на биораспределение

В настоящее время существуют технологии синтеза наночастиц золота с разнообразной формой ядра [58], выбор которой для биомедицинского применения определяется конкретной целью исследования. Для фотоакустической визуализации и фототермической терапии необхо-

димы наночастицы, у которых пик поглощения поверхностного плазмонного резонанса находится в ближней инфракрасной области спектра (650–900 нм), в этих случаях применяют наностержни или нанооболочки, реже – нанозвезды и наноклетки [59, 60]. В настоящее время клинические испытания проходит технология AuroLase – фототермическая терапия рака предстательной железы с применением препарата AuroShell, представляющего собой нанооболочки с внешним диаметром ~150 нм, толщиной золотого слоя 10–20 нм и ядром из диоксида кремния [61, 62].

В качестве радиосенсибилизаторов и рентгеноконтрастных средств для КТ могут использоваться наночастицы любой формы. Значительно чаще других применяются обычные сферические наночастицы, однако возможны и другие варианты. Например, в работе [63] показаны рентгеноконтрастные свойства нанозвезд, а в исследовании [64] нанозвезды демонстрировали радиосенсибилизирующие свойства. В работе [65] в качестве радиосенсибилизаторов исследовали наночастицы специфической треугольной формы. Хотя форма не влияет на способность наночастиц поглощать рентгеновское излучение, она может изменять характер их биораспределения в организме, что определяет возможность разработки перспективных препаратов для биомедицинского применения.

Следует признать, что на данный момент влияние формы наночастиц на фармакокинетические свойства изучено недостаточно. Закономерно считается, что свойства нанооболочек аналогичны свойствам сферических наночастиц соответствующего диаметра [66, 67]. Тот же принцип сформулирован для нанозвезд: в работе [68] при исследовании биораспределения сферических наночастиц золота с диаметром золотого ядра 47 нм и нанозвезд со средним расстоянием между кончиками лучей 54 нм характер биораспределения был схожим, с одним исключением: звезды в существенно большем количестве накапливались в легких мышей.

Более сложным вопросом остается биораспределение наностержней. Поскольку они активно используются в фототермической терапии, в целом их биораспределение достаточно хорошо изучено [69, 70]. Однако сравнение биораспределения сферических наночастиц и наностержней дает противоречивые результаты. В исследовании [71] наностержни размером 45×10 нм или сферические наночастицы диаметром 50 нм вводили внутривенно мышам с ортотопическим ксенографтом рака яичника человека A2780. Все наночастицы были покрыты ПЭГ 5 кДа. Однако заряд поверхности наностержней был нейтраль-

ным (+1,13 мВ), а сферических наночастиц – отрицательным (–27,1 мВ). Биораспределение оценивали по данным ICP-MS в сроки от 30 мин до 7 сут. Во все временные точки сферические наночастицы определялись в печени в значительно большей концентрации. Время полувыведения из кровотока наностержней было значительно больше, и в экспериментальной опухоли они накапливались интенсивнее: через 6 ч после инъекции концентрация золота в опухоли составляла ~3 % ID/г, а после инъекции сферических наночастиц – не более 1 % ID/г. В рамках той же работы проведен эксперимент *in vitro*, показавший, что мышинными макрофагами RAW 264.7 сферические наночастицы захватывались намного активнее, чем стержни. Этим объясняется относительно медленное накопление стержней в печени мышей, длительное время циркуляции и эффективное аккумулятирование в опухоли. Однако в данной работе, несмотря на покрытие ПЭГ, заряд поверхности сферических наночастиц оставался отрицательным, в то время как у наностержней он был практически нейтральным. Кроме того, стержни были меньше сфер (45×10 и 50 нм соответственно). Таким образом, полученные данные о различии в биораспределении нельзя связать исключительно с формой наночастиц.

В работе [68] получены аналогичные результаты: наностержни (62×27 нм, –22,9 мВ) менее интенсивно накапливались в печени и селезенке и дольше циркулировали в кровотоке мышей, чем сферические наночастицы (47 нм, –33,2 мВ). Но в исследовании [72] результат оказался противоположным: сферические наночастицы продемонстрировали наибольшее время циркуляции в крови, наименьшее содержание в печени и селезенке и наилучшее накопление в экспериментальной подкожной опухоли ЕМТ6 по сравнению с наностержнями, нанодисками и наноклетками. При этом сферические частицы даже по размеру были больше стержней (соответственно 57 и 39×9 нм), а ζ-потенциал не измерялся.

Уникально в своем роде исследование [73], в котором изучали способность наностержней превращаться в сферические наночастицы под влиянием лазерного излучения в импульсном режиме. Величина наностержней до облучения составляла 50×10 нм. После облучения наночастицы принимали более или менее эллипсоидную форму со средним размером 27×17 нм. Количество золота в каждой наночастице сохранялось неизменным. Покрытием служил ПЭГ 5 кДа, заряд поверхности был нейтральным как до, так и после облучения: +0,48 и +1,83 мВ соответственно. Биораспределение наночастиц определяли через 72 ч после внутривенного введения мышам с

подкожной опухолью С26. По данным ICP-MS, единственным различием была несколько более высокая концентрация наностержней в селезенке ($0,1 > p > 0,05$). В печени, напротив, наностержни накапливались в меньшем количестве, но различия не достигали статистической значимости. В остальных органах, а также в экспериментальной опухоли, наночастицы аккумулятировались с одинаковой интенсивностью.

Неоднозначные результаты исследований *in vivo* оставляют открытым вопрос о том, имеют ли наностержни преимущество перед сферическими наночастицами с точки зрения биораспределения. При создании агентов для фототермической терапии наностержни используются благодаря оптимальному положению пика плазмонного резонанса. Но при создании препаратов-радиосенсибилизаторов могут применяться наночастицы золота любого размера и формы, в том числе и стержни [74, 75]. Эффективность терапии при этом определяется практически исключительно способностью наночастиц накапливаться в опухолевой ткани. Однако на данный момент не обоснована необходимость в синтезе наностержней для радиосенсибилизации. По-видимому, с равным успехом можно использовать более простые в синтезе сферические наночастицы.

Для исследования влияния формы наночастиц на биораспределение необходимо исключить влияние других факторов, в частности размера и заряда поверхности. При синтезе классическим химическим методом Туркевича сферические наночастицы получают с цитратным покрытием и отрицательным зарядом поверхности, в то время как при синтезе наностержней используется цетилтриметиламмония бромид, придающий положительный заряд. Он токсичен, поэтому впоследствии его заменяют на другое покрытие, например ПЭГ. Тем не менее при неполной замене покрытия сферические наночастицы могут сохранять отрицательный заряд, а стержни – положительный, что существенно влияет на биораспределение. Поэтому при сравнении наночастиц различной формы определение ζ-потенциала является обязательным.

Исключить влияние размера при сравнении наночастиц разной формы практически невозможно. Если у сферических наночастиц есть только один размер (диаметр), то у наностержней следует принимать во внимание и длину, и диаметр цилиндра. Возникает вопрос, какие измерения можно сравнивать между собой. В работе [76] здоровым мышам вводили внутривенно наночастицы различной формы и размера с покрытием БСА: сферические наночастицы диаметром 50 нм, 20 нм или наностержни размером

57×18 нм. Несмотря на то что все исследованные наночастицы продемонстрировали крайне малое время циркуляции в кровотоке, отличия в скорости захвата печенью были заметны: после инъекции наночастиц диаметром 50 нм через 10 мин в печени находилось 90 % ID, наностержней 57×18 – 60 % ID, а наночастиц диаметром 20 нм – 40 % ID. Авторы делают вывод, что поведение наночастиц в организме зависит преимущественно от размера, а не от формы, поскольку наностержни демонстрировали промежуточную скорость накопления в печени между более крупными и более мелкими сферическими наночастицами. В целом следует признать, что вопрос о влиянии формы наночастиц на взаимодействие с клетками и биораспределение *in vivo* требует дополнительного изучения. Однако имеющиеся на данный момент результаты свидетельствуют о том, что влияние формы наночастиц на характер их биораспределения и способность накапливаться в опухолях имеет существенно меньшую значимость по сравнению с размером частицы и типом покрытия.

Заключение

Наночастицы золота – потенциальная основа диагностических и терапевтических препаратов с широкой перспективой применения в различных сферах биомедицины. Их биораспределение зависит от структуры, пути введения, физиологического состояния организма и протекающего в нем патологического процесса. Накопление наночастиц золота в модельных опухолях лабораторных животных определяется длительностью циркуляции в кровотоке. Основной путь элиминации из крови – захват макрофагами печени и, в меньшей степени, селезенки. В многочисленных исследованиях *in vivo* показано, что наибольшее время циркуляции демонстрируют наночастицы меньшего размера (до 50 нм) с полимерным покрытием и нейтральным зарядом. Тем не менее на ряд вопросов еще предстоит ответить. В частности, потенциал применения мелких экскретируемых наночастиц золота (<5,5 нм) не раскрыт полностью, для развития данного направления необходимы всесторонние токсикологические исследования. Остается проблемой накопление большого количества золота в печени животных.

Есть и другие нерешенные вопросы. На данный момент не сформирована методика сравнения биораспределения для наночастиц различной формы. Во многих работах не проводится определение ζ-потенциала наночастиц в связи с техническими сложностями, хотя известно, что значение этого фактора очень велико, и без его исключения

нельзя сделать вывод о вкладе других факторов. Продолжается в настоящее время поиск новых таргетных агентов и изучение их влияния на эффективность накопления наночастиц в опухолях. Таким образом, несмотря на огромное количество накопленного фактологического материала, необходимо продолжение исследований *in vivo* в области биораспределения наночастиц золота и систематизация полученных результатов.

Список литературы / References

1. Milan J., Niemczyk K., Kus-Liśkiewicz M. Treasure on the earth-gold nanoparticles and their biomedical applications. *Materials (Basel)*. 2022;15(9):3355. doi: 10.3390/ma15093355
2. Kesharwani P., Ma R., Sang L., Fatima M., Sheikh A., Abourehab M.A.S., Gupta N., Chen Z.S., Zhou Y. Gold nanoparticles and gold nanorods in the landscape of cancer therapy. *Mol. Cancer*. 2023;22(1):98. doi: 10.1186/s12943-023-01798-8
3. 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*. 1986;46(12 Pt 1):6387–6392.
4. Danhier F. To exploit the tumor microenvironment: Since the EPR effect fails in the clinic, what is the future of nanomedicine? *J. Control. Release*. 2016;244(Pt A):108–121. doi: 10.1016/j.jconrel.2016.11.015
5. Natfji A.A., Ravishankar D., Osborn H.M.I., Greco F. Parameters affecting the enhanced permeability and retention effect: the need for patient selection. *J. Pharm. Sci.* 2017;106(11):3179–3187. doi: 10.1016/j.xphs.2017.06.019
6. Liu X., Jiang J., Meng H. Transcytosis – an effective targeting strategy that is complementary to “EPR effect” for pancreatic cancer nano drug delivery. *Theranostics*. 2019;9(26):8018–8025. doi: 10.7150/thno.38587
7. Golombek S.K., May J.N., Theek B., Appold L., Drude N., Kiessling F., Lammers T. Tumor targeting via EPR: strategies to enhance patient responses. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2018;130:17–38. doi: 10.1016/j.addr.2018.07.007
8. Ejigah V., Owoseni O., Bataille-Backer P., Ogun-dipe O.D., Fisusi F.A., Adesina S.K. Approaches to improve macromolecule and nanoparticle accumulation in the tumor microenvironment by the enhanced permeability and retention effect. *Polymers (Basel)*. 2022;14(13):2601. doi: 10.3390/polym14132601
9. Wang L., Rao Y., Liu X., Sun L., Gong J., Zhang H., Shen L., Bao A., Yang H. Administration route governs the therapeutic efficacy, biodistribution and macrophage targeting of anti-inflammatory nanoparticles in the lung. *J. Nanobiotechnology*. 2021;19(1):56. doi: 10.1186/s12951-021-00803-w

10. Enea M., Pereira E., Silva D.D., Costa J., Soares M.E., de Lourdes Bastos M., Carmo H. Study of the intestinal uptake and permeability of gold nanoparticles using both *in vitro* and *in vivo* approaches. *Nanotechnology*. 2020;31(19):195102. doi: 10.1088/1361-6528/ab6dfb
11. Khlebtsov N., Dykman L. Biodistribution and toxicity of engineered gold nanoparticles: a review of *in vitro* and *in vivo* studies. *Chem. Soc. Rev.* 2011;40(3):1647–1671. doi: 10.1039/c0cs00018c
12. Sodipo B., Kasim Mohammed Z. Advances in biodistribution of gold nanoparticles: the influence of size, surface charge, and route of administration. *Biomed. Mater.* 2024;19:042010. doi: 10.1088/1748-605X/ad5484
13. Haute D.V., Berlin J.M. Challenges in realizing selectivity for nanoparticle biodistribution and clearance: lessons from gold nanoparticles. *Ther. Deliv.* 2017;8(9):763–774. doi: 10.4155/tde-2017-0057
14. Vert M., Doi Y., Hellwich K., Hess M., Hodge P., Kubisa P., Rinaudo M., Schué F. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*. 2012;84(2):377–410. doi: 10.1351/PAC-REC-10-12-04
15. Chithrani B.D., Ghazani A.A., Chan W.C. Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. *Nano lett.* 2006;6(4):662–668. doi: 10.1021/nl052396o
16. Walkey C.D., Olsen J.B., Guo H., Emili A., Chan W.C. Nanoparticle size and surface chemistry determine serum protein adsorption and macrophage uptake. *J. Am. Chem. Soc.* 2012;134(4):2139–2147. doi: 10.1021/ja2084338
17. Li X., Hu Z., Ma J., Wang X., Zhang Y., Wang W., Yuan Z. The systematic evaluation of size-dependent toxicity and multi-time biodistribution of gold nanoparticles. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 2018;167:260–266. doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.04.005
18. Xia Q., Huang J., Feng Q., Chen X., Liu X., Li X., Zhang T., Xiao S., Li H., Zhong Z., Xiao K. Size- and cell type-dependent cellular uptake, cytotoxicity and *in vivo* distribution of gold nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine*. 2019;14:6957–6970. doi: 10.2147/IJN.S214008
19. Cho W.S., Cho M., Jeong J., Choi M., Han B.S., Shin H.S., Hong J., Chung B.H., Jeong J., Cho M.H. Size-dependent tissue kinetics of PEG-coated gold nanoparticles. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010;245(1):116–123. doi: 10.1016/j.taap.2010.02.013
20. Skribitsky V.A., Finogenova Y.A., Lipengolts A.A., Pozdniakova N.V., Smirnova A.V., Shpakova K.E., Grigorieva E.Y. *In vivo* studies of laser-ablated gold nanoparticles as dose enhancers for binary radiotherapy of cancer. *Physics of Atomic Nuclei*. 2022;85(9):1598–1602. doi: 10.1134/S1063778822090356
21. Dong Y.C., Hajfathalian M., Maidment P.S.N., Hsu J.C., Naha P.C., Si-Mohamed S., Breuilly M., Kim J., Chhour P., Douek P., Litt H.I., Cormode D.P. Effect of gold nanoparticle size on their properties as contrast agents for computed tomography. *Sci. Rep.* 2019;9(1):14912. doi: 10.1038/s41598-019-50332-8
22. de Jong W.H., Hagens W.I., Krystek P., Burger M.C., Sips A.J., Geertsma R.E. Particle size-dependent organ distribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Biomaterials*. 2008;29(12):1912–1919. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.12.037
23. Sonavane G., Tomoda K., Makino K. Biodistribution of colloidal gold nanoparticles after intravenous administration: effect of particle size. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*. 2008;66(2):274–280. doi: 10.1016/j.colsurfb.2008.07.004
24. Behrooz Z., Rahimi B., Kookli K., Safari M.S., Hamblin M.R., Razmgir M., Janzadeh A., Ramezani F. Distribution of gold nanoparticles into the brain: a systematic review and meta-analysis. *Nanotoxicology*. 2021;15(8):1059–1072. doi: 10.1080/17435390.2021.1966116
25. Male D., Gromnicova R., McQuaid C. Gold nanoparticles for imaging and drug transport to the CNS. *Int. Rev. Neurobiol.* 2016;130:155–198. doi: 10.1016/bs.irn.2016.05.003
26. Hirn S., Semmler-Behnke M., Schleh C., Wenk A., Lipka J., Schäffler M., Takenaka S., Möller W., Schmid G., Simon U., Kreyling W.G. Particle size-dependent and surface charge-dependent biodistribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2011;77(3):407–416. doi: 10.1016/j.ejpb.2010.12.029
27. Hainfeld J.F., Smilowitz H.M., O'Connor M.J., Dilmanian F.A., Slatkin D.N. Gold nanoparticle imaging and radiotherapy of brain tumors in mice. *Nanomedicine (Lond)*. 2013;8(10):1601–1609. doi: 10.2217/nnm.12.165
28. Lansangan C., Khoobchandani M., Jain R., Rudensky S., Perry C.C., Patil R. Designing gold nanoparticles for precise glioma treatment: challenges and alternatives. *Materials (Basel)*. 2024;17(5):1153. doi: 10.3390/ma17051153
29. Norouzi M. Gold nanoparticles in glioma theranostics. *Pharmacol. Res.* 2020;156:104753. doi: 10.1016/j.phrs.2020.104753
30. Zhang G., Yang Z., Lu W., Zhang R., Huang Q., Tian M., Li L., Liang D., Li C. Influence of anchoring ligands and particle size on the colloidal stability and *in vivo* biodistribution of polyethylene glycol-coated gold nanoparticles in tumor-xenografted mice. *Biomaterials*. 2009;30(10):1928–1936. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.12.038
31. Perrault S.D., Walkey C., Jennings T., Fischer H.C., Chan W.C. Mediating tumor targeting efficiency of nanoparticles through design. *Nano Lett.* 2009;9(5):1909–1915. doi: 10.1021/nl900031y
32. Liu S., Piao J., Liu Y., Tang J., Liu P., Yang D., Zhang L., Ge N., Jin Z., Jiang Q., Cui L. Radiosensi-

tizing effects of different size bovine serum albumin-templated gold nanoparticles on H22 hepatoma-bearing mice. *Nanomedicine (Lond)*. 2018;13(11):1371–1383. doi: 10.2217/nnm-2018-0059

33. Du B., Yu M., Zheng J. Transport and interactions of nanoparticles in the kidneys. *Nature Reviews Materials*. 2018;3(10):358–374. doi: 10.1038/s41578-018-0038-3

34. Xie M., Xu Y., Huang J., Li Y., Wang L., Yang L., Mao H. Going even smaller: Engineering sub-5 nm nanoparticles for improved delivery, biocompatibility, and functionality. *Wiley Interdiscip. Rev. Nanomed. Nanobiotechnol*. 2020;12(6):e1644. doi: 10.1002/wnan.1644

35. Verry C., Dufort S., Villa J., Gavard M., Iriart C., Grand S., Charles J., Chovelon B., Cracowski J.L., Quesada J.L., ... Balosso J. Theranostic Au₁₀₁ nanoparticles as radiosensitizer: A phase I, dose-escalation study in patients with multiple brain metastases (NANO-RAD trial) *Radiother. Oncol*. 2021;160:159–165. doi: 10.1016/j.radonc.2021.04.021

36. Zhang X.D., Wu D., Shen X., Liu P.X., Fan F.Y., Fan S.J. *In vivo* renal clearance, biodistribution, toxicity of gold nanoclusters. *Biomaterials*. 2012;33(18):4628–4638. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.03.020

37. Huang K., Ma H., Liu J., Huo S., Kumar A., Wei T., Zhang X., Jin S., Gan Y., Wang P.C., ... Liang X.J. Size-dependent localization and penetration of ultrasmall gold nanoparticles in cancer cells, multicellular spheroids, and tumors in vivo. *ACS Nano*. 2012;6(5):4483–4493. doi: 10.1021/nn301282m

38. Zhang X.D., Chen J., Luo Z., Wu D., Shen X., Song S.S., Sun Y.M., Liu P.X., Zhao J., Huo S., ... Xie J. Enhanced tumor accumulation of sub-2 nm gold nanoclusters for cancer radiation therapy. *Adv. Healthc. Mater*. 2014;3(1):133–141. doi: 10.1002/adhm.201300189

39. Zhang X.D., Luo Z., Chen J., Song S., Yuan X., Shen X., Wang H., Sun Y., Gao K., Zhang L., ... Xie J. Ultrasmall glutathione-protected gold nanoclusters as next generation radiotherapy sensitizers with high tumor uptake and high renal clearance. *Sci. Rep*. 2015;5:8669. doi: 10.1038/srep08669

40. Zhang X.D., Luo Z., Chen J., Shen X., Song S., Sun Y., Fan S., Fan F., Leong D.T., Xie J. Ultrasmall Au₍₁₀₋₁₂₎(SG)₍₁₀₋₁₂₎ nanomolecules for high tumor specificity and cancer radiotherapy. *Adv. Mater*. 2014;26(26):4565–4568. doi: 10.1002/adma.201400866

41. Naumenko V., Nikitin A., Kapitanova K., Melnikov P., Vodopyanov S., Garanina A., Valikhov M., Ilyasov A., Vishnevskiy D., Markov A., ... Majouga A. Intravital microscopy reveals a novel mechanism of nanoparticles excretion in kidney. *J. Control. Release*. 2019;307:368–378. doi: 10.1016/j.jconrel.2019.06.026

42. Popov A.A., Tselikov G., Al-Kattan A., Kabashin A.V. Femtosecond laser-ablative synthesis of plasmonic Au and TiN nanoparticles for biomedical applications. *Synthesis and Photonics of Nanoscale Materials*

XVI: proc. conf., 4 March 2019. 2019;10907:1090708. doi: 10.1117/12.2513970

43. Skribitsky V.A., Pozdniakova N.V., Lipengolts A.A., Popov A.A., Tikhonowski G.V., Finogenova Yu.A., Smirnova A.V., Grigorieva E.Y. A Spectrophotometric method for estimation of the size and concentration of laser ablated gold nanoparticles. *Biophysica*. 2022;67(1):22–26. doi: 10.1134/S0006350922010171

44. Turkevich J., Stevenson P.C., Hillier J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society*. 1951;11:55–75. doi: 10.1039/DF9511100055

45. Mahato K., Nagpal S., Shah M.A., Srivastava A., Maurya P.K., Roy S., Jaiswal A., Singh R., Chandra P. Gold nanoparticle surface engineering strategies and their applications in biomedicine and diagnostics. *3 Biotech*. 2019;9(2):57. doi: 10.1007/s13205-019-1577-z

46. Gao H., He Q. The interaction of nanoparticles with plasma proteins and the consequent influence on nanoparticles behavior. *Expert Opin. Drug Deliv*. 2014;11(3):409–420. doi: 10.1517/17425247.2014.877442

47. Wang J., Bai R., Yang R., Liu J., Tang J., Liu Y., Li J., Chai Z., Chen C. Size- and surface chemistry-dependent pharmacokinetics and tumor accumulation of engineered gold nanoparticles after intravenous administration. *Metallomics*. 2015;7(3):516–524. doi: 10.1039/c4mt00340c

48. Arvizo R.R., Miranda O.R., Moyano D.F., Walden C.A., Giri K., Bhattacharya R., Robertson J.D., Rotello V.M., Reid J.M., Mukherjee P. Modulating pharmacokinetics, tumor uptake and biodistribution by engineered nanoparticles. *PLoS One*. 2011;6(9):e24374. doi: 10.1371/journal.pone.0024374

49. Elci S.G., Jiang Y., Yan B., Kim S.T., Saha K., Moyano D.F., Yesilbag Tonga G., Jackson L.C., Rotello V.M., Vachet R.W. Surface charge controls the suborgan biodistributions of gold nanoparticles. *ACS Nano*. 2016;10(5):5536–5542. doi: 10.1021/acsnano.6b02086

50. Shi L., Zhang J., Zhao M., Tang S., Cheng X., Zhang W., Li W., Liu X., Peng H., Wang Q. Effects of polyethylene glycol on the surface of nanoparticles for targeted drug delivery. *Nanoscale*. 2021;13(24):10748–10764. doi: 10.1039/d1nr02065j

51. Niidome T., Yamagata M., Okamoto Y., Akiyama Y., Takahashi H., Kawano T., Katayama Y., Niidome, Y. PEG-modified gold nanorods with a stealth character for *in vivo* applications. *J. Control. Release*. 2006;114(3):343–347. doi: 10.1016/j.jconrel.2006.06.017

52. Kozics K., Sramkova M., Kopecka K., Bergerova P., Manova A., Krivosikova Z., Sevcikova Z., Liskova A., Rollerova E., Dubaj T., ... Gabelova A. Pharmacokinetics, biodistribution, and biosafety of PEGylated gold nanoparticles *in vivo*. *Nanomaterials (Basel)*. 2021;11(7):1702. doi: 10.3390/nano11071702

53. Lipka J., Semmler-Behnke M., Sperling R.A., Wenk A., Takenaka S., Schleh C., Kissel T., Parak W.J., Kreyling W.G. Biodistribution of PEG-modified gold nanoparticles following intratracheal instillation and intravenous injection. *Biomaterials*. 2010;31(25):6574–6581. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.05.009
54. Larson T.A., Joshi P.P., Sokolov K. Preventing protein adsorption and macrophage uptake of gold nanoparticles via a hydrophobic shield. *ACS Nano*. 2012;6(10):9182–9190. doi: 10.1021/nn3035155
55. Goddard Z.R., Marín M.J., Russell D.A., Searcey M. Active targeting of gold nanoparticles as cancer therapeutics. *Chem. Soc. Rev.* 2020;49(23):8774–8789. doi: 10.1039/d0cs01121e
56. Ahmad A., Khan F., Mishra R.K., Khan R. Precision cancer nanotherapy: evolving role of multifunctional nanoparticles for cancer active targeting. *J. Med. Chem.* 2019;62(23):10475–10496. doi: 10.1021/acs.jmedchem.9b00511
57. Wilhelm S., Tavares A.J., Dai Q., Ohta S., Audet J., Dvorak H.F., Chan W.C. Analysis of nanoparticle delivery to tumours. *Nature Reviews Materials*. 2016;1(5):1–12. doi: 10.1038/natrevmats.2016.14
58. Ortiz-Castillo J.E., Gallo-Villanueva R.C., Madou M.J., Perez-Gonzalez V.H. Anisotropic gold nanoparticles: A survey of recent synthetic methodologies. *Coordination Chemistry Reviews*. 2020;425:213489. doi: 10.1016/j.ccr.2020.213489
59. Liu Y., Crawford B.M., Vo-Dinh T. Gold nanoparticles-mediated photothermal therapy and immunotherapy. *Immunotherapy*. 2018;10(13):1175–1188. doi: 10.2217/imt-2018-0029
60. Zhou R., Zhang M., Xi J., Li J., Ma R., Ren L., Bai Z., Qi K., Li X. Gold nanorods-based photothermal therapy: interactions between biostructure, nanomaterial, and near-infrared irradiation. *Nanoscale Res. Lett.* 2022;17(1):68. doi: 10.1186/s11671-022-03706-3
61. Jue J.S., Coons S., Hautvast G., Thompson S.F., Geraats J., Richstone L., Schwartz M.J., Rastinehad A.R. Novel automated three-dimensional surgical planning tool and magnetic resonance imaging/ultrasound fusion technology to perform nanoparticle ablation and cryoablation of the prostate for focal therapy. *J. Endourol.* 2022;36(3):369–372. doi: 10.1089/end.2021.0266
62. Sung D., Sanchez A., Tward J.D. Successful salvage brachytherapy after infusion of gold auroshell nanoshells for localized prostate cancer in a human patient. *Adv. Radiat. Oncol.* 2023;8(4):101202. doi: 10.1016/j.adro.2023.101202
63. Zu L., Liu L., Qin Y., Liu H., Yang H. Multifunctional BSA-Au nanostars for photoacoustic imaging and X-ray computed tomography. *Nanomedicine*. 2016;12(7):1805–1813. doi: 10.1016/j.nano.2016.05.003
64. Ma N., Liu P., He N., Gu N., Wu F.G., Chen Z. Action of gold nanospikes-based nanoradiosensitizers: cellular internalization, radiotherapy, and autophagy. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2017;9(37):31526–31542. doi: 10.1021/acsami.7b09599
65. Bhattarai S.R., Derry P.J., Aziz K., Singh P.K., Khoo A.M., Chadha A.S., Liopo A., Zubarev E.R., Krishnan S. Gold nanotriangles: scale up and X-ray radiosensitization effects in mice. *Nanoscale*. 2017;9(16):5085–5093. doi: 10.1039/c6nr08172j
66. Terentyuk G.S., Maslyakova G.N., Suleymanova L.V., Khlebtsov B.N., Kogan B.Y., Akchurin G.G., Shantrocha A.V., Maksimova I.L., Khlebtsov N.G., Tuchin V.V. Circulation and distribution of gold nanoparticles and induced alterations of tissue morphology at intravenous particle delivery. *J. Biophotonics*. 2009;2(5):292–302. doi: 10.1002/jbio.200910005
67. Pannrec-Varna M., Ratajczak P., Bousquet G., Ferreira I., Leboeuf C., Boissard R., Gapihan G., Verine J., Palpant B., Bossy E., ... Janin A. *In vivo* uptake and cellular distribution of gold nanoshells in a preclinical model of xenografted human renal cancer. *Gold Bulletin*. 2013;46:257–265. doi: 10.1007/s13404-013-0115-8
68. Talamini L., Violatto M.B., Cai Q., Monopoli M.P., Kantner K., Krpetić Ž., Perez-Potti A., Cookman J., Garry D., Silveira C.P., ... Bigini P. Influence of size and shape on the anatomical distribution of endotoxin-free gold nanoparticles. *ACS Nano*. 2017;11(6):5519–5529. doi: 10.1021/acs.nano.7b00497
69. Niidome T., Akiyama Y., Yamagata M., Kawano T., Mori T., Niidome Y., Katayama Y. Poly(ethylene glycol)-modified gold nanorods as a photothermal nanodevice for hyperthermia. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2009;20(9):1203–1215. doi: 10.1163/156856209X452953
70. Akiyama Y., Mori T., Katayama Y., Niidome T. The effects of PEG grafting level and injection dose on gold nanorod biodistribution in the tumor-bearing mice. *J. Control Release*. 2009;139(1):81–84. doi: 10.1016/j.jconrel.2009.06.006
71. Arnida, Janát-Amsbury M.M., Ray A., Peterson C.M., Ghandehari H. Geometry and surface characteristics of gold nanoparticles influence their biodistribution and uptake by macrophages. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2011;77(3):417–423. doi: 10.1016/j.ejpb.2010.11.010
72. Black K.C., Wang Y., Luehmann H.P., Cai X., Xing W., Pang B., Zhao Y., Cutler C.S., Wang L.V., Liu Y., Xia Y. Radioactive ¹⁹⁸Au-doped nanostructures with different shapes for *in vivo* analyses of their biodistribution, tumor uptake, and intratumoral distribution. *ACS Nano*. 2014;8(5):4385–4394. doi: 10.1021/nn406258m
73. Akiyama Y., Mori T., Katayama Y., Niidome T. Conversion of rod-shaped gold nanoparticles to spherical forms and their effect on biodistribution in tumor-bearing mice. *Nanoscale Res. Lett.* 2012;7(1):565. doi: 10.1186/1556-276X-7-565
74. Wolfe T., Chatterjee D., Lee J., Grant J.D., Bhattarai S., Tailor R., Goodrich G., Nicolucci P,

Krishnan S. Targeted gold nanoparticles enhance sensitization of prostate tumors to megavoltage radiation therapy *in vivo*. 2015;11(5):1277–1283. doi: 10.1016/j.nano.2014.12.016

75. Zhao N., Yang Z., Li B., Meng J., Shi Z., Li P., Fu S. RGD-conjugated mesoporous silica-encapsulated gold nanorods enhance the sensitization of triple-negative breast cancer to megavoltage radiation therapy. *Int. J. Nanomedicine*. 2016;11:5595–5610. doi: 10.2147/IJN.S104034

76. Zhang J., Nie X., Ji Y., Liu Y., Wu X., Chen C., Fang X. Quantitative biokinetics and systemic translocation of various gold nanostructures are highly dependent on their size and shape. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2014;14(6):4124–4138. doi: 10.1166/jnn.2014.8274

Сведения об авторах:

Финогенова Юлия Андреевна, ORCID: 0000-0002-5144-1039, e-mail: b-f.finogenova@yandex.ru
Липенгольц Алексей Андреевич, к.ф.-м.н., ORCID: 0000-0002-5631-9016, e-mail: lipengolts@mail.ru
Скрибицкий Всеволод Андреевич, ORCID: 0000-0003-2942-7895, e-mail: skvseva@yandex.ru
Шпакова Кристина Евгеньевна, ORCID: 0000-0003-0246-1794, e-mail: shpakova.k.e@gmail.com
Смирнова Анна Вячеславовна, к.б.н., ORCID: 0000-0003-0386-9732, e-mail: smirn-ova@mail.ru
Сычева Наталья Николаевна, ORCID: 0000-0001-5398-0565, e-mail: natalia.n.sycheva@gmail.com
Григорьева Елена Юрьевна, д.б.н., ORCID: 0000-0001-7726-7991, e-mail: grig-elen11@mail.ru

Information about the authors:

Yulia A. Finogenova, ORCID: 0000-0002-5144-1039, e-mail: b-f.finogenova@yandex.ru
Alexey A. Lipengolts, candidate of physico-mathematical sciences, ORCID: 0000-0002-5631-9016, e-mail: lipengolts@mail.ru
Vsevolod A. Skribitsky, ORCID: 0000-0003-2942-7895, e-mail: skvseva@yandex.ru
Kristina E. Shpakova, ORCID: 0000-0003-0246-1794, e-mail: shpakova.k.e@gmail.com
Anna V. Smirnova, candidate of biological sciences, ORCID: 0000-0003-0386-9732, e-mail: smirn-ova@mail.ru
Natalia N. Sycheva, ORCID: 0000-0001-5398-0565, e-mail: natalia.n.sycheva@gmail.com
Elena Yu. Grigorieva, doctor of biological sciences, ORCID: 0000-0001-7726-7991, e-mail: grig-elen11@mail.ru

Поступила в редакцию 11.06.2024

После доработки 18.09.2024

Принята к публикации 13.11.2024

Received 11.06.2024

Revision received 18.09.2024

Accepted 13.11.2024