

# Nanopartikkelit korkean intensiteetin kohdistetussa ultraääniterapiassa

Kari Iltanen  
kari.iltanen@smail.fi  
24.5.2021

Tämä teos on lisensoitu Creative Commons Nimeä-EiKaupallinen 4.0  
Kansainvälinen -lisenssillä.

# Sisällys

<b>Johdanto</b>	<b>1</b>
<b>1 Ultraääni ja HIFU</b>	<b>2</b>
1.1 Ultraääni . . . . .	2
1.2 HIFU . . . . .	4
<b>2 Nanopartikkelit HIFUssa</b>	<b>7</b>
2.1 Vaatimukset . . . . .	9
2.2 Vaikutusmekanismit . . . . .	10
2.3 Kohdistusmekanismit . . . . .	11
2.4 Nanopartikkelit . . . . .	13
2.4.1 Nanokuplat . . . . .	13
2.4.2 Mesohuokoinen piioksidi . . . . .	14
2.4.3 Muut epäorgaaniset nanopartikkelit . . . . .	17
2.4.4 Orgaaniset . . . . .	19
2.4.5 Hybridit . . . . .	20
2.5 Sovellukset . . . . .	22
<b>3 Analyysi</b>	<b>23</b>
<b>4 Yhteenveto</b>	<b>24</b>
<b>Viitteet</b>	<b>25</b>

## Johdanto

Korkean intensiteetin kohdistetussa ultraääniterapiassa (HIFU) suuritehoinen ultraäänikeila kohdistetaan erittäin pienelle alueelle, missä olevat solut kuolevat. Sillä voidaan korvata perinteisiä hoitomenetelmiä: leikkaus, lääke- ja sädehoito. [1, 2]

Sädehoidon ongelmana on siinä käytetty ionisoiva säteily, joka aiheuttaa ei-toivottuja kudonvaurioita sekä kertaantuvat säteilyn vaikutukset. Lääkehoito kärsii tällä hetkellä kohdistuksen puutteesta eli lääkeaine vaikuttaa koko elimistöön eikä vain haluttuun kohteeseen. Leikkaushoidon suurimmat ongelmat ovat kustannukset, tulehdusriskit, pitkät toipumisajat, osastohoidon tarve ja toimenpiteen rasitus. [1]

HIFU on ei-invasiivinen menetelmä, kuten myös lääkehoito, sädehoito, ultraääniterapia, valodynaaminen ja magnetodynaaminen terapia. Kaksi viimeistä vaativat toimiakseen väliainetta, johon ulkoinen energia vaikuttaa. Valodynaamisessa terapiassa käytettävä lähi-infrapunasäteily tunkeutuu vain noin 10 cm syvyyteen. Magnetodynaamisella terapialla, jossa kohteeseen kertyneet partikkelit lämpenevät magneettikentän vaikutuksesta johtaen paikalliseen hypertermiaan, ei ole syvyysrajoitteita. [3, 4]

Nanopartikkelien koko ainakin yhdessä suunnassa on alle 100 nm, tosin bionotieteessä jopa 500 nm hiukkasia pidetään nanopartikkeleina. Nanopartikkelit ovat riittävän pieniä päästäkseen jopa solujen sisään. Tällä hetkellä nanopartikkeleita käytetään kliinisesti joidenkin lääkeaineiden kuljettimina ja magneettikuvauksessa varjoaineena. Niiden odotetaan parantavan nykyisten hoitojen vastetta ja mahdollistavan lukuisia uusia hoitomuotoja. [5]

Koska HIFU käyttää ultraääntä sillä ei ole kertyviä sivuvaikutuksia joten hoitokertojen määrää ei tarvitse rajoittaa. [1]

Tässä työssä tarkastellaan nanopartikkelien käyttöä HIFUn vasteen parantamiseen. Ensin esitellään lyhyesti ultraääniä ja HIFU, seuraavaksi perehdytään nanopartikkeleihin HIFUssa ja lopuksi esitellään mahdollisia sovelluksia.

# 1 Ultraääni ja HIFU

Tässä kappaleessa esitellään ultraäänen ja HIFUn perusteet sekä tutustutaan ultraäänen biologisiin vaikutuksiin.

## 1.1 Ultraääni

Ultraääni on ääntä jonka taajuus on yli 20 kHz. Ultraääntä käytetään lääketieteessä pehmytkudosten, verenkiertoelimistön diagnostiikassa ja terapiassa. Äänen eteneminen kehossa riippuu kudostyypistä ja käytetystä taajuudesta. Etenemisyvyys on kääntäen verrannollinen käytettyyn taajuuteen. Tärkeimmät esteet ultraäänen etenemiselle kehossa ovat luuston absorptio ja heijastukset sekä kaasutäytteiset alueet kuten keuhkot. [6]

Tyypillisesti diagnostisessa ultraäänessä käytetään 1–18 MHz taajuusaluetta ja tehotiheys on luokkaa  $30 \text{ mW/cm}^2$ . Ääniaaltojen etenemisnopeus kehossa vaihtelee veden  $1482 \text{ m/s}$  luun yli  $3000 \text{ m/s}$ , täten taajuudella 1 MHz olettaen nopeudeksi  $1500 \text{ m/s}$  aallonpituudeksi saadaan  $1,5 \text{ mm}$ . [6, 7]

Tarvittavat ääniaallot tuotetaan pietsosähköisesti, kuvan muodostus perustuu takaisin heijastuneen ultraäänen intensiteettiin ja kulkuaikaan. Kudosten rajapinnassa osa tulevasta aallosta heijastuu ja osa taittuu. Heijastukset johtuvat ääniaallon reitillä olevien kudosten erilaisista akustisista ominaisuuksista. Absorboituessaan kohdealueella ultraääni lämmittää kudosta mutta matala tehotiheys pitää lämpenemisen pienenä. [6, 7]

Miller *et al.* mukaan ultraäänen vaikutukset kehossa riippuvat käytetystä taajuudesta, pulssien kestosta ja intensiteetistä. Ultraäänidiagnostiikassa pyritään minimoimaan absorptiosta aiheutuvat mahdolliset haitat, käyttämällä pienintä mahdollista intensiteettiä jolla kuvantaminen onnistuu. Mahdollisia vaikutuksia ovat lämpeneminen, mekaaninen jännitys, kavitaatio ja sen sukulaisilmiö kaasua sisältävien alueiden aktivoituminen sekä muut tuntemattomat ei-termiset prosessit. [8]

Jo ultraäänidiagnostiikassa syntyy yli 2 MPa:n negatiivisia jännitteitä, ja ne kasvavat ultraäänen intensiteetin kasvaessa. Voimakkaat negatiiviset jännitteet voivat aiheuttaa kavitaatiota mikäli kohdealueella on soveliaita kavitaatioytimiä tai kaasua sisältävien alueiden, joita on keuhkoissa, suolistossa tai varjoaineissa, värähtelyn. [8]

Muita ultraäänen vaikutusmekanismeja ovat puristus-, veto- ja leikkausjännitysten suorat vaikutukset. Käytetystä energiasta riippuviin toisen asteen ilmiöihin kuuluu säteilypaine, hiukkasiin kohdistuvat voimat ja akustinen virtaus, joka on korkean amplitudin ääniaaltojen absorptioon aiheuttama vakaa fluidin virtaus. [8]

Korkeilla tehoilla tai amplitudeilla kehon kokonaisvasteeseen vaikuttaa samanaikaisesti useampikin edellä mainituista ilmiöistä. Suorien fysikaalisten vaikutusten päälle tulevat vielä toissijaiset mekanismit, kuten verisuonten supistuminen, iskemia ja immuunivaste. Toissijaiset vaikutukset voivat olla suurempia kuin suorat vaikutukset. [8]

Terapeuttisessa ultraäänessä käytetään suurempia tehotiheyksiä, jotka voivat olla jopa luokkaa  $4 \text{ W/cm}^2$ , jolloin kudosuutokset tai muutosten stimulointi on mahdollista. Muita vaikutuksia ovat paikallinen hypertermia ( $42\text{--}43 \text{ }^\circ\text{C}$ ), reaktiivisten happiyhdisteiden synty, solukalvojen ja verisuonten seinämien muuttuminen läpäisevimmiksi. Myös lääkeaineiden vapauttaminen mikro- tai nanopartikkeleista on mahdollista. Useat ryhmät ovat tutkineet nanopartikkeleiden käyttöä tehosteaineena ultraääniterapiassa. [8, 9]

Chen *et al.* mukaan ultraäänelle on käytössä varjoaineena mikrokuplia ( $1\text{--}10 \text{ }\mu\text{m}$ ), joissa on lipideistä tai polymeereistä koostuva kuori ja kaasutäyte. Mikrokuplien suurimmat ongelmat ovat nopea poistuminen kehosta ja suuresta koosta johtuva kyvyttömyys päästä verisuonten seinämien läpi soluväliaineeseen. [10, 11]

Sonodynaaminen terapia (SDT) perustuu suhteellisen matalan intensiteetin ( $0,5\text{--}4 \text{ W/cm}^2$ ) ultraäänen vaikutuksiin, kuten reaktiivisten happiyhdisteiden syntyyn ja kalvojen muuttumiseen läpäisevimmiksi. Tämä terapiamuoto edellyttää ultraääni-

herkistimien (sonosensitizer) käyttöä, jotka voivat olla molekyylijä, mikro- tai nanopartikkeleita. SDT:ssa esiintyy osin samoja ilmiöitä kuin HIFUssa, kuten kavitaatio. [12, 13]

## 1.2 HIFU

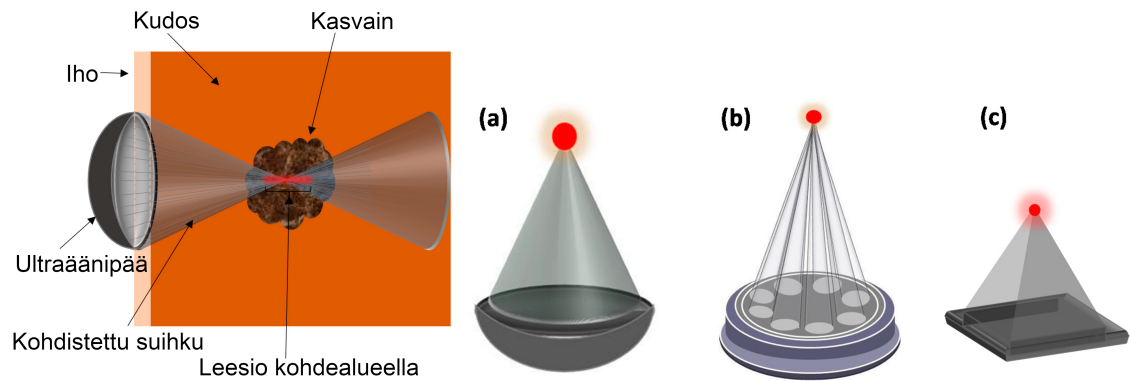
HIFUsta käytetään myös nimeä focused ultrasound surgery (fus) ja sitä ei tule sekoittaa SDT:hen. Menetelmän ideana on kohdistaa tiettyyn pisteeseen erittäin voimakas ultraäänikeila, jonka energia tuhoaa kohdealueen soluja. Kohteen ulkopuoliset alueet eivät tuhoudu, koska ultraäänen intensiteetti jää pienemmäksi kuin tuhoutumiseen vaaditaan kohdistusalueen ulkopuolella (Kuva 1). [14]

Kohdistus voi tapahtua elektronisesti lukuisista ultraäänilähteistä koostuvalla ohjatulla ultraäänipäällä, akustisella linssillä tai ultraäänipään muodon avulla. Kuvassa 1 on esitetty kaaviokuvat kolmesta ultraäänimunnintyyppistä. Kahdessa jälkimmäisessä kohdistussyvyys ja keilan suuntaus ovat kiinteitä, elektronisessa ohjauksessa kohdistusta muutetaan yksittäisten ultraäänielementtien käyttösignaalin vaihemuutoksilla. [2]

Hoidettavan kohteen koon ollessa paljon suurempi kuin yhden kohdistuspisteen käsittelyalue, kohdistusta siirretään ennakkosuunnitelman mukaisesti seuraavaan pisteeseen kunnes määritelty alue on käsitelty kokonaisuudessaan. Kohdistuksen siirto tapahtuu elektronisesti tai liikuttamalla ultraäänipäätä. [2]

Käsittelyn etenemistä seurataan yleensä magneettikuvauksella (MRI) tai ultraäänellä, MRI tarjoaa paremman resoluution ja mahdollistaa kohdealueen lämpötilan seurannan reaaliajassa. Ultraääni häviää kuvantamistarkkuudessa, mutta on halvempi ja helpompi käyttää. [1, 2]

Tyypillisesti kohdistusalueen koko 1–3 mm ja syvyys 10 mm, tästä seuraa että pienenkin kasvaimen käsittelemiseksi kohdistuspistettä on siirrettävä lukuisia kertoja mikä tekee prosessista hitaan. [1]



Kuva 1. Vasemmalla kaaviokuva HIFU-terapian ideasta, tekstit käännetty. Oikealla ultraäänilähteiden kaaviokuvat: (a) kaareva kohdistava lähde, (b) järjestetty monimäntämuunnin ja (c) täysi ultraäänilähderyhmä. Lähde: Izafar *et al.* [1], lisenssi: CC-BY-4.0.

HIFUa voidaan käyttää jatkuvan tilan lisäksi myös pulssitettuna, jossa kohteeseen lähetetään määrääjain lyhyitä ultraäänipulsseja suurella teholla. Pulssitetussa toimintatilassa on helpompi hallita kohteeseen päätyvää energiamäärää ja kudokset kohteen ympärillä sekä ultraäänien reitillä ehtivät jäähtyä pulssien välillä. [15]

Käytetyt ultraäänitaajuuudet ovat välillä 0,5–8 MHz, mutta useimmin käytetään noin 1 MHz taajuutta jonka on havaittu toimivan parhaiten kuumentamisessa. HIFUssa käytettävät akustiset tehotiheydet ovat 100–1000 W/cm<sup>2</sup>, mikä voi johtaa palovammoihin ja vaurioittaa ympäröiviä kudoksia. Vasteen parantamiseksi kehitetään erilaisia tehosteaineita, ja mikrokuplia käytetäänkin niiden ongelmista huolimatta. Vastausta näihin ongelmiin haetaan nanomateriaaleista. [3]

Kasvainten tuhoamisen lisäksi HIFUlla voidaan hetkellisesti avata veri-aivoeste mahdollistaen lääkeaineiden tai geeniterapian pääsy aivoihin ja neurologiassa joidenkin aivosairauksien hoitoon suoraan. HIFUa voidaan käyttää myös esimerkiksi tuhoamaan sydämestä pieniä kohteita, glaukooman hoitoon, gynekologiassa ja joihinkin kauneusoperaatioihin. [1, 8]

Kudoksen tuhoutuminen kohdealueella johtuu lämpötilasta (>57 °C) tai mekaanisista ilmiöistä (kavitaatio). Termisessä ablaatiossa korkea lämpötila tappaa kohdealueen solut muutamassa sekunnissa, mutta suurempien verisuonten lähellä on

hankala käyttää termistä ablaatiota sillä verenkierto poistaa lämpöä alueelta. Lämpöenergiaa myös diffusoituu kohdistusalueelta pois. [1]

Kavitaatio voi olla vakaata tai inertiaalista. Vakaassa kavitaatiossa lämpötila nousee hieman kun tasaisesti värähtelevien kuplien kasvaessa aiheutuu leikkausjännitystä ja ympäröivän fluidin virtausta. Tietyn painerajan yläpuolella vakaasta kavitaatiosta tulee inertiaalista. [2, 16]

Inertiaalisessa kavitaatiossa kuplat jatkavat kasvuaan ja värähtelyä kunnes hajoavat räjähdysmäisesti muodostaen energettisiä suihkuja ja voimakkaan paineaallon joka hajottaa ympäröivää kudosta. Myös korkeita paineita ja lämpötiloja ja voimakasta leikkausjännitystä esiintyy kavitaation yhteydessä sekä kemiallisia reaktioita, joissa voi syntyä reaktiivisia happiyhdisteitä. [1, 2, 12]



## 2 Nanopartikkelit HIFUssa

Tässä luvussa perehdytään HIFUlle kehitteillä oleviin nanopartikkeleihin, jotka parantaisivat hoitovastetta ja mahdollistavat erilaiset yhdistelmäterapiat, kuten kemoterapia+HIFU. Nanopartikkeleiden esittelyn lisäksi kerrotaan nanopartikkeleihin kohdistuvista vaatimuksista, niiden kohdistamisesta ja vaikutusmekanismeista.

HIFUn hoitovasteen parantamiseksi kehitteillä olevat nanopartikkelit voidaan jakaa pääluokkiin niiden rakenteen tai materiaalien perusteella. Useimmat kirjallisuudessa mainitut nanopartikkelit rakentuvat mesohuokoisesta piioksidista, muista epäorgaanisista aineista, nanokuplista/kapseleista tai orgaanisista yhdisteistä.

Ainakin osaa SDT:lle kehitetyistä nanopartikkeleista voidaan käyttää myös HIFUn kanssa, mutta useimpia SDT:n nanopartikkeliherkistinkandinaatteja ei ole testattu HIFUssa. Myös kaasukuplia tietyissä olosuhteissa, kuten sopiva pH tai korkea lämpötila, muodostavat partikkelit ovat eräs kiinnostava nanopartikkelityyppi. [17, 18]

Osa kehitteillä olevista partikkeleista muuttavat kokoaan kohteessa, pienestä voitulla suuri tai päinvastoin, nämä tunnetaan faasinmuutospartikkeleina. Tietyillä kapselimateriaaleilla, kuten fosfolipideillä, mikrokupla voidaan hajottaa nanokupliksi elimistössä jotka voivat päästä verisuonten seinämien läpi kohdekudokseen. Nanokuplat taas kasvavat mikrokupliksi vasta kohteessa. [17, 19]

Vasteen paraneminen mahdollistaa käsittelyn keston lyhentämisen ja ultraäänitehon madaltamisen, mikä vähentää haittavaikutuksia. Jotkin kohteet ovat niin syvällä tai muuten hankalassa paikassa että niiden HIFU-käsittely on hankalaa ilman tehostainetta (synergistic agent). [17]

Tutkijoiden kesken on erimielisyyttä siitä pyritäänkö tehostamaan ensisijaisesti kavitaatiota vai lämpenemistä. Osa tutkijoista pitää kavitaation avulla tapahtuvaa kohteen tuhoamista tehokkaampana kuin lämpövasteen kautta. Kavitaatiosta ei voi päästä eroon. [20]

Nanopartikkelit kykenevät läpäisemään kasvaimen verisuonten huokoiset seinämät päästäkseen soluväliaineeseen mikäli niiden koko on alle 700 nm. Pienempien nanopartikkelien on mahdollista päästä myös solujen sisään mikä tehostaisi hoitoa entisestään. Ultraäänen on raportoitu kasvattavan solukalvon läpäisevyyttä [21]. [17]

Useimmat nanopartikkelit, erityisesti epäorgaaniset, eivät ole sellaisenaan käytökelpoisia vaan niiden pintaa täytyy muokata. Mahdollisia parannuskohteita ovat fysiologinen vakaus, aika verenkierrossa ja kohdistus, joilla voidaan pienentää nanopartikkeleiden tarvittavaa kokonaismäärää. Mahdollisia kohdistusmekanismeja tehosteaineen kerryttämiseksi on kehitteillä lukuisia erilaisia. [17]

Wang *et al.* mukaan mahdollisuus käyttää nanopartikkeleita samanaikaisesti HIFU-käsittelyn tehosteena ja reaaliaikaisessa seurannassa sekä yhdistää muita hoitomuotoja, kuten kemoterapia tai sädehoito, HIFUun kiinnostaa nanopartikkeleissa. [22]

Myös pelkkää lääkeaineiden tai muihin terapiamuotoihin käytettävien tehosteaineiden vapautusta nanopartikkeleista kohteeseen HIFUn avulla tutkitaan ahkerasti. Hoidon kohdistus paranee kun hoitava aine vapautetaan kuljettimesta kohdistetulla ulkoisella impulssilla. [22]

Lupaavista tuloksista huolimatta kliinisten kokeiden aloittamisen tiellä on vielä lukuisia esteitä, kuten epävarmuudet bioyhteensopivuuden suhteen, vaikutusmekanismin epäselvyys ja valmistusprosessit. Myös muutaman kandidaatin poimiminen lukuisten joukosta kliinisiin kokeisiin on varsin hankalaa. [22, 23]

Yildirim *et al.* kertovat, että erityyppisten nanopartikkelien keskinäinen vertailu on hankalaa, sillä raportoiduissa kokeissa on usein verrattu kehitettyä nanopartikkeliä johonkin sen osista koostuvaan yksinkertaisempaan varianttiin ja pelkkään HIFUun. Käytetyt ultraäänitehot vaihtelivat melkoisesti ja välillä ei ilmoitettu tehotehyyttä vaan teho, mikä ei ole vertailukelpoinen suoraan. Tehon lisäksi vertailuun tarvitaan tiedot käytetystä taajuudesta, pulssin kestosta, ja pulssien toistotaajuudesta, sekä positiivinen ja negatiivinen maksimipaine. [15]

Zhou *et al.* mukaan myös akustinen paine ( $p$ ),  $p^2 = I v \rho$ , missä  $I$  on akustinen intensiteetti,  $v$  ja  $\rho$  ovat äänen nopeus kudoksessa ja tiheys, olisi hyvä ilmoittaa tehosteainekokeissa, sillä sitä voidaan käyttää ultraäänien biologisten vaikutusten arviointiin. Eri elinten ultraäänien sietokyvyn vaihtelu on myös huomioitava. [24]

## 2.1 Vaatimukset

Kuten aina terveysteknologiassa HIFUn tehosteaineiksi kehitettävien tulee täyttää tiukat bioyhteensopivuuskriteerit, joita ovat biohajoavuus, vakaus, vaarattomuus elimistössä. Lisäksi tulevat valmistusprosessia koskevat vaatimukset liittyen tuotteen tasalaatuisuuteen, puhtauteen ja prosessin skaalautuvuuteen. Huonosti säilyvä tehosteaine voidaan joutua valmistamaan paikan päällä. [17]

Osana siirtymää laboratoriovalmistuksesta massatuotantoon ja kliniseen käyttöön on nanopartikkeleiden suunnittelussa ja optimoinnissa huomioitava synteessin hinta, mutkikkuus ja laadunhallinta. Nanorakenteen ja koostumuksen tarkka hallinta on hankalaa, erityisesti kun toistettavuus huomioidaan. Nanovalmistukseen kehitettyjen uusien menetelmien ja laitteistojen tai niiden muunnosten arvellaan soveltuvan myös ultraäänelle herkkien nanopartikkeleiden synteisiin. [17]

Pintakemia määrittää pitkälti nanopartikkelien käytöksen elimistössä, joten sen hallinta on erittäin tärkeää. Erilaisilla nanopartikkeleilla on oma pintakemiansa, joten yleistä pinnan suunnittelustrategiaa ei toistaiseksi ole käytettävissä hankaloitetaan nanopartikkelien pinnan ominaisuuksien määrittämistä etukäteen. [17]

Ultraääniherkkyuden mekanismin epäselvyys vaikeuttaa ultraääniherkkien nanopartikkelien suunnittelua. Siihen kuuluu mahdollisuus ultraäänivasteen tarkkaan säätämiseen ja nanopartikkeleiden fysiokemiallisiin ominaisuuksista johtuvan vasteen täsmällisen riippuvuuden käytetyistä ultraäänien parametreista tunteminen. [17]

Huomioitavia seikkoja nanopartikkeleiden kehityksessä ovat akuutin ja kroonisen myrkyllisyyden lisäksi mahdollisten hajoamistuotteiden ominaisuudet ja poistome-

kanismit sekä immuunijärjestelmän reaktiot. Nanopartikkelien itsensä turvallisuus ei vielä takaa ultraäänen ja nanopartikkelien yhdistelmän turvallisuutta. [17, 25]

Bioyhteensopiviksi tiedetyistä yhdisteistä valmistettujen nanopartikkeleiden käytös voi muuttua lisättävien toiminnallisten ryhmien myötä, lisäksi on tarkasteltava lisättyjen yhdisteiden bioyhteensopivuutta. Monitoimisten nanopartikkeleiden suosion kasvaessa ei riitä käytettyjen komponenttien bioyhteensopivuuden toteaminen vaan on huomioitava myös eri komponenttien yhteisvaikutukset. [19, 23]

Eryteisesti metalli- tai metallioksidinanopartikkelit saattavat olla myrkyllisiä riippuen ainakin koosta ja pitoisuuksista. Nanopartikkeleista voi irrota metalli-ioneja vesiliuoksessa jotka aiheuttavat haitallisia reaktioita tai nanopartikkelien pinnalla olevat elektronit voivat reagoida herkästi pinnan kanssa kosketuksissa olevien aineiden kanssa ilman ulkoista herätettäkin. Metallioksidinanopartikkelit ja nanopartikkelit yleisestikin saattavat vaurioittaa solukalvoja mekaanisesti. Reaktiivisuutta voidaan vähentää pintakäsittelyillä. [12, 26]

Nanopartikkelien kokojakauman hallinta on oleellista, sillä tietyt koot saattavat olla myrkyllisiä ja jakauma kehossa riippuu kokojakaumasta. Kapea kokojakauma helpottaa nanopartikkelien käytöksen arviointia ja kohdistusta. [26, 27]

Koska HIFU-käsittely saattaa kestää jopa yli tunnin on käytettävän tehosteaineen konsentraation kohdealueella pysyttävä riittävän korkeana, ettei sitä jouduta lisäämään käsittelyn aikana. Tarvittaessa nanopartikkeleiden hajoamisnopeutta voidaan nostaa lisäämällä niihin bioaktiivisia orgaanisia molekyylejä. [15]

## 2.2 Vaikutusmekanismit

Sadeghi-Goughari *et al.* ovat tutkineet kiinteiden nanopartikkelien ja HIFUn välistä vuorovaikutusta kudoksessa. Ultraääni saa nanopartikkelit oskilloimaan viskoosisissa aineessa mikä johtaa viskooseihin aaltoihin nanopartikkelien ympärillä kasvattaen ultraäänen absorptiota kudoksessa kun ääniaaltojen vaimeneminen kasvaa. [28]

Toinen tekijä on työ jonka nanopartikkelit tekevät liikkueessaan akustisen paineen vaikutuksesta, mistä aiheutuva lämpötilagradientti kasvattaa ultraäänen absorptiota nanopartikkeleita ympäröivien termisten aaltojen vuorovaikuttaessa ääniaaltojen kanssa. Nämä tekijät tulevat kudoksen luontaisen absorptioon lisäksi. [28]

Beik *et al.* ovat todenneet että nanopartikkelien ja ultraäänen vuorovaikutus lämmittää kohdealuetta mikä johtuu ääniaaltojen kasvaneesta vaimenemisesta ja metallisten nanopartikkelien korkeasta lämmönjohtavuudesta. [3]

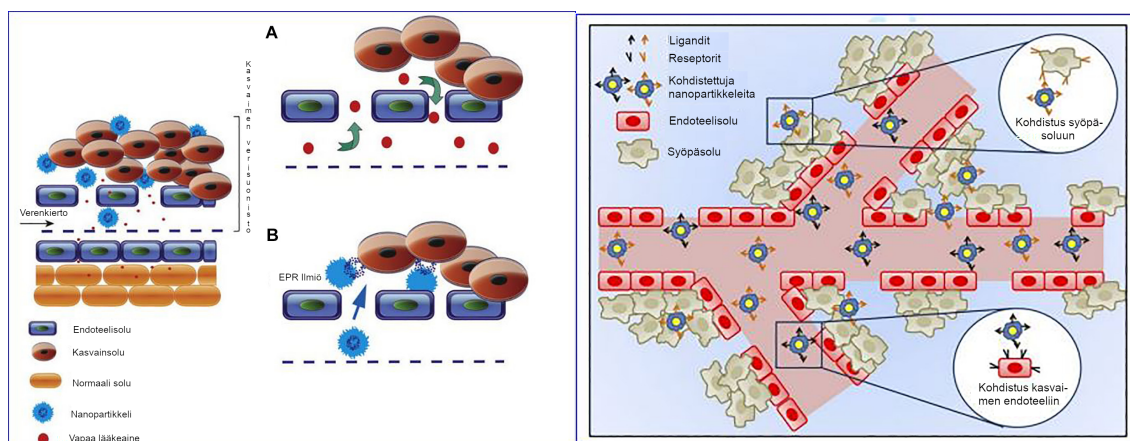
Vaimenemisen taustalla on ääniaaltojen sironta ja absorptio, ilmiön voimakkuus kasvaa koon mukana. Jos nanopartikkelit ovat samankokoisia ne vaimentavat voimakkaammin ultraäänen korkeampia taajuuksia ja intensiteettiä. [3]

Nanopartikkeleiden lämmönjohtavuus vaikuttaa kasvainkudoksen lämmönjohtavuuteen, hyvin lämpöjohtavat nanopartikkelit kasvattavat lämpenemisnopeutta verrattuna ympäröivään kudokseen. Nanopartikkelien lämmönjohtavuus kasvaa niiden pienetessä, kun pinta-ala/tilavuus suhde kasvaa, joten koon valinnassa on tehtävä kompromissi lämmönjohtavuuden ja absorption välillä. [3]

Reaktiivisten happiyhdisteiden synty kavitaation vaikutuksesta on HIFUssa voimakkaampaa kuin SDT:n yhteydessä huomattavasti korkeammasta lämpötilasta johtuvan korkeamman reaktionopeuden myötä. Nanopartikkeilla voidaan voimistaa näitä vuorovaikutuksia. [13]

## 2.3 Kohdistusmekanismit

Tehosteaineesta ei ole hyötyä ellei sitä saada kasvainkudokseen, useimmiten verenkierron kautta. Kohdistus voi olla aktiivista tai passiivista, riippuen siitä käytetäänkö kohdistukseen vain nanopartikkelien ominaisuuksista johtuvaa suurempaa kertymistodennäköisyyttä vai kohteeseen hakeutuvaa molekyyliä. Suurin osa tähänastisista tutkimuksista käyttää passiivista kohdistusta, sillä aktiivinen kohdistus on mutkikkaampi prosessi. Kuvassa 2 esitellään aktiivisen ja passiivisen kohdistuksen idea. [29]



Kuva 2. Kaaviokuvat passiivi- (vasen) ja aktiivikohdistuksesta (oikea). Kuvista näkyy kuinka nanopartikkelit hakeutuvat kohteeseen. Tekstit käännetty. Lähde: Yan *et al.* [30], lisenssi: CC-BY-NC-4.0.

Passiivisessa kohdistuksessa valitaan käytettävän tehosteaineen/partikkelin koko, muoto ja pinnan ominaisuudet siten että ne hakeutuvat todennäköisemmin kohteeseen kuin muualle elimistöön. Kasvainten yhteydessä EPR-efekti (enhanced permeation and retention), jossa riittävän pienet hiukkaset pystyvät läpäisemään kasvainten vuotavat verisuonten seinämät ja jäävät kasvainkudokseen, on yksi mahdollinen passiivikohdistusstrategia. Kasvaimen sijainnista ja tyypistä riippuen koon yläraja on useimmiten 200–2000 nm. [29]

Passiivisen kohdistuksen toimivuuden kannalta on oleellista että käytettävät nanopartikkelit eivät poistu elimistöstä nopeasti vaan pysyvät verenkierrossa mistä kertyvät hiljalleen kasvaimeen. Nanopartikkelin muodon on todettu vaikuttavan merkittävästi siihen mihin elimiin ne kertyvät sekä niiden kertymis- ja poistumisnopeuksiin ainakin mesohuokoisilla piioksidin nanopartikkeleilla. [29]

Nanopartikkelin pinnan ominaisuuksia muuttamalla voidaan vähentää veriplasmassa olevien proteiinien tarttumista niiden pintaan, jossa ne muodostavat ns. proteiinkoronan tehden nanopartikkelista helpommin havaittavan immuunijärjestelmän syöjäsoluille elimistöstä poistamista varten. [22, 29]

Ainakin polyeteyleeniglykolia(PEG) ja solukalvoja on käytetty epäorgaanisten

nanopartikkelien päällystämiseen tai niiden pintaan voidaan kiinnittää kahtaisioneja jotka estävät proteiinien kiinnittymistä ionien yläpuolelle muodostuvan äärimmäisen ohuen vesikerroksen avulla. [29]

Aktiivisessa kohdistuksessa pyritään siihen että tehosteaine hakeutuisi vain määrättyyn kohteeseen liittämällä siihen ligandeja jotka tarttuvat erittäin todennäköisesti kohdesoluissa yliedustettuina oleviin reseptoreihin. Passiivikohdistukseen liittyvät tekijät ja rajoitteet eivät luonnollisesti poistu mihinkään otettaessa aktiivinen kohdistus käyttöön. [29]

Kohdistimina käytetyt ligandit voivat olla ainakin vasta-aineita, proteiineja, peptidejä, aptameerejä, hiilihydraatteja tai vitamiineja. Myös anaerobiset bakteerit ovat mahdollisia kohdistimia, sillä syöpäkasvaimissa on selvästi matalampi happipitoisuus [31]. Nanopartikkelien pintaan kiinnitetyt ligandit kasvattavat niiden kokoa, mikä voi heikentää niiden pääsyä kohteeseen. [29]

## 2.4 Nanopartikkelit

Tässä osiossa esitellään erilaisia HIFUn tehosteeksi ehdotettuja nanopartikkeleita.

### 2.4.1 Nanokuplat

Erilaisia kaasua generoivia tai kuljettavia nanopartikkeleita on kehitteillä lukuisia, usein niissä on fluorihiihivetytäyte mutta myös perfluorihiihivetynanokuplia kehitelty. Ideana on että HIFUn energia muuttaa täytteen kaasuksi tai synnyttää kuplia jotka kasvavat kasvainkudoksessa mikrokupliksi. Faasinmuutos voi aiheutua myös kohdekudoksen poikkeavista ominaisuuksista, kuten pH:sta. Vaikka faasinmuutos vastaakin partikkelikoon ongelmaan, ei sen hallittavuus ole kovin hyvä. [17]

Liberman *et al.* ovat kehittäneet Fe-SiO<sub>2</sub> nanokuoren perfluorihiihivetytätteellä ja osoittavat että niiden avulla HIFU-käsittelyn kestoa voitaisiin lyhentää merkittävästi. Nanokuorten todettiin lisäävän kudostuhoon johtavia mekaanisia ja termisiä

vaikutuksia kasvaimessa, vaikutusmekanismiksi esitetään ultraäänen sirontaa nanokuplista. [32]

Zhang *et al.* mukaan vastainekohdistettu PLGA nanokupla kaasumaisella perfluorihilivety-ytimellä, jonka mukana on methotrexate-lääkeainetta, on yksi ehdokas HIFUn tehosteaineeksi. Keskimääräiseksi halkaisijaksi ilmoitetaan noin 480 nm. Nanokuplista vapautuvalla lääkeaineella pyritään tuhoamaan HIFU-käsittelystä jäljelle jääneitä syöpäsoluja. Aktiivisella vasta-ainekohdistuksella on suuri merkitys hoidon tehon kannalta nanokuplien kertyessä tehokkaasti kasvainkudokseen. [33]

Chang *et al.* ovat testanneet perfluorihilivetynanopisaroita kahdella erityyppisellä kuorella, naudan albumiiniseerumi (BSA) tai anioninen fluorisurfatantti (FS), pulssitetussa HIFUssa lyhytkestoisilla pulseilla. Nanopisaroiden koko on 240 nm ja 225 nm vastaavasti, viikon säilytyksenkin (20 °C) jälkeen keskihalkaisija jäi alle 300 nm ja pisarat todettiin riittävän vakaiksi. Nanopisaroiden avulla HIFUn todettiin tuhoavan moninkertaisen alueen verrattuna pelkkään HIFUun kaksinkertaisella teholla, testi tehtiin kudosta jäljittelevässä aineessa. [34]

Vasteen paranemisen arvellaan aiheutuneen kavitaatioytiminä toimivista nanopisaroista, jotka kasvavat ultraäänen vaikutuksesta aiheuttaen sirontaa ja kavitaatioita. Taustalla oleviksi mekanismeiksi esitetään ääniaallon voimakasta sirontaa kohdistusalueella olevista kuplista, viskoosin absorptioon kasvua oskilloivien kuplien pinnalla ja kuplien inertiaalisesta romahtamisesta syntyvien korkeiden taajuuskomponenttien energian absorboitumista paikallisesti. [34]

## 2.4.2 Mesohuokoinen pioksidi

IUPAC määrittelee partikkelin mesohuokoiseksi kun sen huokosten koko on 2–50 nm. Mesohuukoiset pioksidinanopartikkelit (MSN) ovat erittäin lupaava teknologia erilaisiin terveysteknologian sovelluksiin hyvän bioyhteensopivuuden ja muokattavuuden vuoksi, yleensä pintaan kiinnitetään erilaisia lääkeaineita ja/tai muita molekyy-



lejä joilla muokataan pinnan ominaisuuksia kuten hydrofobisuutta. [35]

Zhou *et al.* mukaan MSN:en valmistus tapahtuu useassa vaiheessa lähtien usein sol-gel menetelmällä vesiliuoksessa organosilaanista emäksisen tai happaman katalyytin läsnäollessa jossa muodostuu Si-O-Si ketjuja. [36]

Seuraavassa vaiheessa itsekoontaa ohjaava rakennetekijä kiinnittyvät muodostuneisiin ketjuihin ja muodostavat misellin ketjut sisäänpäin. Ketjujen jäljellä olevat orgaaniset sivuhaarat poistetaan ja tilalle muodostuu Si-O-Si sidoksia. Lopuksi rakennetekijä poistetaan. Onttoja nanopartikkeleita valmistettaessa piikuori kootaan poistettavan muotin päälle. [36]

HIFUa varten kehitteillä olevat MSN:t ovat usein onttoja. Monissa kokeissa onttojen nanopartikkelien täytteenä on nestemäistä perfluorihiihivetyä, joka kaasuuntuu lämmitessään absorboituneen ultraäänienergian myötä muodostaen kuplia. [36]

Wang *et al.* ovat tutkineet MSN-pohjaisia nanokapseleita, joiden pintaan on kiinnitetty kultananopartikkeleita ja sitten päällystetty polyetyleeniglykolilla (PEG). Kapselin sisällä on perfluorihiihivetyä, joka muodostaa kuplia ultraäänelle altistuksessaan. MSN:n koko oli noin 250 nm ja kuoren paksuus 50 nm, kultananopartikkelien koko oli noin 5–10 nm. [37]

Absorboitu ultraäänienergia muuttaa perfluorihiihivetytätteen kaasukupliksi, jotka turpoavat ja yhdistyvät muodostaen mikrokuplia ultraäänen varjoaineeksi. Nanopartikkelien vaikutusta eri kokoonpanoissa, pelkkä MSN kapseli, kulta-PEG-pinnoitus ja pinnoitettu kapseli fluorihiihivetytätteellä, lämpenemiseen on testattu mittaamalla lämpötilaa ultraäänikäsittelyn aikana agarissa. [37]

Tulokset osoittavat pinnoituksen auttavan merkittävästi ja täytteen vielä enemmän pelkkään MSN kapseliin nähden. Aikaisempien töiden perusteella kultananopartikkeleiden arvellaan parantavan erittäin pienten kuplien muodostumista parantaen kontrastia ultraäänikuvantamisessa. Kehitettyjen nanopartikkeleiden on osoitettu eläinkokeissa kertyvän kasvaimen passiivisen kohdistuksen myötä. Myös HIFUssa

oli näkyvissä merkittävä parannus käytetyillä nanopartikkeilla. [37]

Yildirim *et al.* ovat kehittäneet dodesylilla hydrofobiseksi muokatun mesohuokoisien nanopartikkelin joka on päällystetty fosfolipidikerroksella. Lipidikerros mahdollistaa lisäfunktionalisoinnin PEG:llä ja foolihapolla parantaen nanopartikkeiden dispersiota biologisessa aineessa ja sisäänottoa syöpäsoluihin. [38]

Ilmatäytteiset partikkelit edellyttävät hydrofobisen pinnan ilmataskujen vakauttamiseksi kuplien nukleaatiota varten, sillä MSN:n ilman dodesyl-käsittelyä ei havaittu parantavan kontrastia ultraäänikuvantamisessa. Nanopartikkelit pysyivät aktiivisina solujen sisälläkin ja tehostavan HIFUn vaikutusta merkittävästi. [38]

Chen *et al.* raportoivat MSN kuoresta mangaanioksidi seostuksella MRI ohjattuun HIFUun. Perfluoriheksaanitäyte lisättiin HIFUa varten, mangaani puolestaan parantaa MRI:n resoluutiota mahdollistaen ultraäänen paremman kohdistamisen halutulle alueelle johtaen parantuneeseen HIFU-vasteeseen. Nanopartikkeiden mahdollistama ultraäänitehon lasku verrattuna samaan tulokseen pääsemiseksi tarvittavaan tehoon pelkällä HIFUlla näkyi irtoelimillä ja eläinkokeissa. [39]

Blum *et al.* mukaan hydrofobiseksi muunnetut fosfolipidikerroksella päällystetyt MSN:t soveltuvat tehosteaineiksi HIFUun. Fosfolipidikerros muuttuu lämpötilan noustessa geelimäiseksi ennen kuin se sulaa. Kaviaation käynnistymisen kannalta geelimäisestä lipidikerroksesta johtuvien epätasaisuuksien arvellaan olevan avainasemassa HIFUssa, lämpötilan noustessa ja lipidikerroksen nesteytyessä tai amfiilien läsnäollessa epätasaisuudet poistuvat. [40]

Jos akustinen kontrasti sammuu tietyn lämpötilan yläpuolella tai epäpuhtauksien läsnäollessa, niin silloin nanopartikkeleja sisältävä alue ei enää reagoi HIFUun voimakkaasti vähentäen kohteen ulkopuolisia kudosvaurioita. [40]

Zhang *et al.* korvasivat MSN kapselien perfluorihilivetytätteen L-mentolilla välttääkseen täytteen nopean kuplimisen HIFU-käsittelyn aikana, mikä voi heikentää hoidon tarkkuutta ja johtaa normaalin kudoksen vaurioitumiseen erityisesti kas-

vaimen ja normaalin kudoksen rajapintaa käsiteltäessä. [41]

L-mentolia käytettäessä voidaan hyödyntää kiinteä-neste-kaasu siirtymää, yhdiste kuplii nestemäisenä suhteellisen rauhallisesti. Tasaisen ja pitkäkestoisen kuplimisen myötä kerta-annos tarjoaa parannuksen HIFU-vasteeseen useammallakin hoitokerralla. Raportoitujen tulosten perusteella MSN L-mentoli-täytteellä on selvästi parempi tehosteaine kuin pelkkä ontto MSN tai MSN fluorihilivetytäytteellä. Lisäksi mukaan voidaan laittaa useampaakin lääkeainetta HIFU-käsittelystä jäljelle jääneiden kasvainsolujen tappamiseksi. [41]

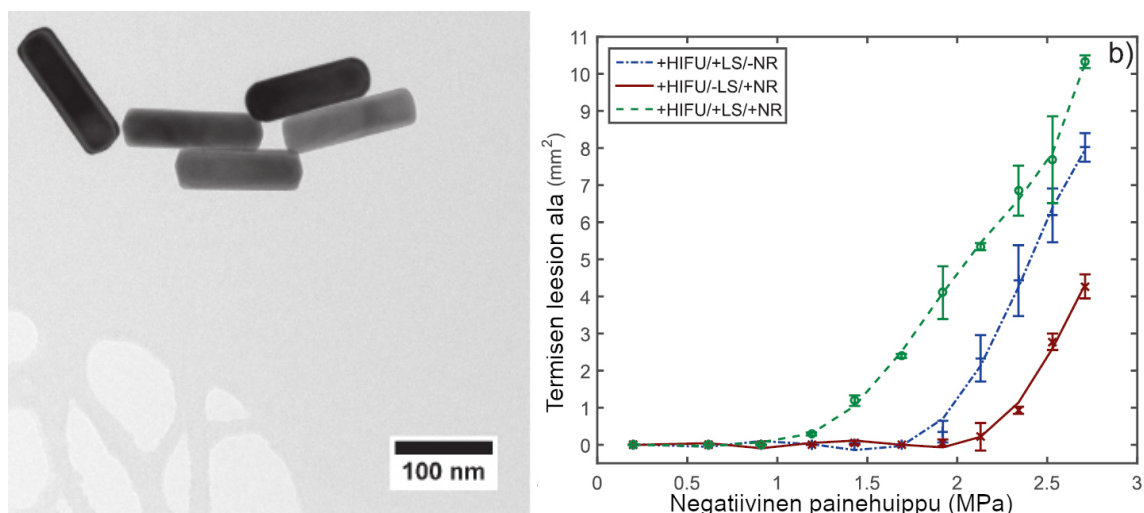
Yildirim *et al.* ovat tutkineet nanopartikkelien ominaisuuksien kuten huokoisuuden, kemiallisten muutosten ja pinnan karheuden vaikutusta akustiseen kavitaatioon ja nanokuplien vakautumiseen MSN:llä. Saatujen tulosten kerrotaan suosivan MSN:ta, joilla on vettähylyvä ja karhea pinta sillä akustinen kavitaatio käynnistyy suurista nanokuplista jotka osittain vettähylyvä pinta vakauttaa. [42]

### 2.4.3 Muut epäorgaaniset nanopartikkelit

Myös metallioksidi- ja metallinanopartikkelit soveltuvat HIFU-tehosteiksi, joissain tapauksissa mikrokapseleihin kiinnitettynä tai sijoitettuna niiden kuoreen.

McLaughlan *et al.* ovat tarkastelleet kultananotankojen käyttöä HIFUn ja pulsilaserin yhdistelmäterapiassa. Ideana on että kultahiukkaset reagoivat akustisesti laserpulsseihin ja näin syntyvät pienet höyryä sisältävät alueet muodostavat HIFUn aiheuttamissa jännityksissä suurempia kuplia jotka reagoivat ultraääneen. Kokeissa kohteena oli nanopartikkeilla seostettu kudosta matkiva massa. [43]

Wang *et al.* ovat kehittäneet aktiivisesti kohdistetun PEG:llä päällystetyn superparamagneettisen rautaoksidi ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) nanopartikkelin, kohdistus pintaan kiinniteyllä vasta-aineilla, MRI ohjattuun HIFUun. Oksidiytimen halkaisija on noin 9 nm, PEG pinnoitus kasvattaa halkaisijan 39 nm:iin ja lopullinen halkaisija on 46 nm. Valmiit nanopartikkelit säilyvät vedessä 4 °C:ssa ainakin kolme kuukautta. [22]



Kuva 3. Vasemmalla TEM kuva nanotangoista ja oikealla termisen leesion ala negatiivisen painehiipun funktiona (käytetty teho). Selite: nanotangot ja ei laserointia (punainen), ei nanotangoja ja laserointi (sininen), nanotangot ja laserointi (vihreä). Tekstit käännetty. Lähde: McLaughlan *et al.* [43], lisenssi: CC-BY-3.0.

Tehostevaikutuksen arvellaan johtuvan aktiivikohdistuksesta seuraavan nanopartikkelien suuremmasta konsentraatiosta verrattuna kohdistamattomiin partikkeleihin seuraavaan parempaan lämmönsiirtonopeuteen kudoksessa. Toisena ilmiönä mainitaan kasvaimen akustisen mikroympäristön muutoksesta johtuva voimakkaampi ultraäänen absorptio kudokseen. [22]

Moosavi Nejad *et al.* ovat tutkineet titaanidioksidinanopartikkeleiden käyttöä HIFUn tehosteaineena erään suusyöpätyypin hoidossa soluviljelmissä ja eläinkokeissa. Käsittelyajat olivat enimmillään kolme sekuntia, jolloin lämpeneminen jäi yhteen asteeseen. Piioksiidiin vetyperoksidilla kytketyt nanopartikkelit, halkaisija keskimäärin 10–30 nm, olivat vesiliuoksessa. Käytetty liuos todettiin soluille vaarattomaksi. [44]

Soluviljelmissä todettiin merkittävä vasteen paraneminen pelkkään HIFUun nähden kun käsittelyaika ja TiO<sub>2</sub> konsentraatio olivat riittävän suuret. Havaittujen tehostevaikutusten arvioitiin johtuvan solukalvojen muuttumisesta epävakaammaksi ja voimistuneesta kavitaatiosta. HIFUsta johtuvat jännitykset solujen ympärillä voisivat johtaa nanopartikkelien vuorovaikutukseen ja päätymiseen solukalvoihin.

Hoitovasteen aiheuttajaksi esitettiin fluidin voimakkaiden liikkeiden ja vapaiden radikaalien synnyn yhdistelmää. [44]

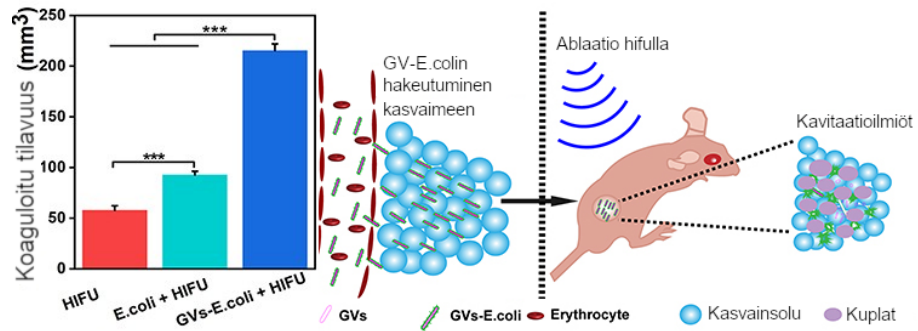
#### 2.4.4 Orgaaniset

Li *et al.* ovat ehdottaneet pH-herkkiä pullulan-doxorubicin nanopartikkeleita, joista saadaan itsekoonnalla misellimäinen nanokuljetin kloorifluorihilivety (CFC) ytimellä. Doxorubicin-pullulan-konjugaatissa on sen vettähylykivien ja hydrofobisten osien välisessä sidorakenteessa on pH herkkä sidos, mikä voi aueta tervettä kudosta happamammassa kasvainkudoksessa vapauttaen doxorubicin-lääkeaineen. CFC:n ja doxyrubicinin (DOX) välinen suhde valitaan valmistusvaiheessa. [45]

HIFU-käsittelyn aikana CFC kokee faasinmuutoksen muodostaen kavitaatiota lisääviä nanokuplia. Koska nanopartikkelien koko testatuilla CFC/DOX suhteilla oli 86–135 nm, niiden arvellaan kertyvän passiivikohdistuksella kasvainkudokseen. [45]

Chen *et al.* ovat tutkineet bifidobakteeria nanopartikkeleiden kuljettamisessa kiinteisiin kasvaimiin joko bakteerin mukana tai vasta-ainekohdistettuna bakteeriin. Jälkimmäisessä tapauksessa annetaan ensin bakteereita jotka tunkeutuvat kasvaimen ja alkavat lisääntyä siellä, nanopartikkelit annetaan seitsemän vuorokauden päästä bakteereista. Tällöin havaittiin myös suurin tehostevaikutus. Bifidobakteeri elää hapettomissa oloissa, joita löytyy kiinteiden kasvainten sisältä. Käytetyt nanopartikkelit olivat perfluorihilivedyllä täytettyjä liposomeja. [31]

Yang *et al.* ovat tutkineet geenimuunnettujen anaerobisten bakteerien, joiden sisälle muodostuu kaasua sisältäviä proteiinikuoria nanopartikkeleita (kaasuvesikkeli), käyttöä tehosteaineena HIFU-terapiassa. Nanopartikkelit toimivat kavitaatioytiminä ja tutkijoiden käyttämä *Escherichia coli* voi estää jo itsessään kasvaimen kasvua. Kaasuvesikkeleiden on todettu parantavan HIFUn vastetta huomattavasti muuntamattomiin bakteereihin ja erityisesti tehosteaineettomaan vasteeseen nähden. [46]



Kuva 4. Kaasuvesikkeleitä sisältävän *E.colin* vaikutus HIFUn vasteeseen ja kohdistuminen kasvaimen. Kuvien tekstit käännetty ja yhdistetty osia. Lähde: Yang *et al.* [46] lisenssi: CC-BY-NC-3.0.

Yildirim *et al.* kertovat erilaisista kaasukuplia herätteen vaikutuksesta tuottamista nanopartikkeleista. Liposomeihin pakattua vetyperoksidia vedeksi ja hapeksi hajottavaa entsyymiä, syntyvät kuplat parantavat HIFUn vastetta, kasvaimen mikroympäristössä vetyperoksidikonsentraatio on koholla. [15]

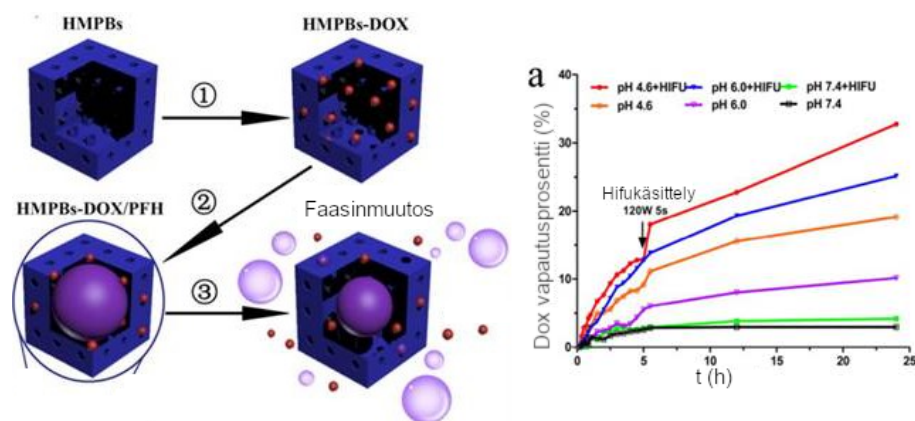
Ammoniumbikarbonaatti puolestaan tuottaa hiilidioksidikuplia kohenneissa lämpötiloissa, jotka saavutetaan HIFUlla, kuljetus kasvaimen tapahtuu liposomin sisällä. Nanopartikkeleista voidaan vapauttaa ultraäänien vaikutuksesta HIFUkäsittelyn aikana terapeuttisia kaasuja, kuten typpioksidia. [15]

#### 2.4.5 Hybridit

Orgaanisten nanopartikkelien etuna on parempi bioyhteensopivuus epäorgaanisiin nanopartikkeleihin verrattuna, joilla on puolestaan parempi vakaus ja muokattavuus. Yksi mahdollisuus on orgaaninen-epäorgaaninen hybridin nanopartikkeli, joka yhdistäisi molempien tyyppien parhaat puolet. [47]

Zhang *et al.* mukaan preussinsinisestä valmistetut ontot mesohuokoiset nanokapselit, joissa on täytteenä perfluoriheksaania ja doxorubicin-lääkeainetta soveltuvat HIFUn tehosteaineeksi sekä mahdollistavat valoakustisen ja ultraäänikuvantamisen. Lääkeaineen vapautus tapahtui pH:n ja HIFUn avulla, ultraäänivaste syntyy fluorihiilivedystä ja valoakustinen vaste johtuu pitkälti preussinsininennan nanopartikkeleista.

Kuva 5 esittelee näiden nanopartikkelien rakennetta ja vastetta, sekä pH:n vaikutusta lääkeaineen vapautumiseen. Nanopartikkelien keskikoko oli noin 269 nm. [48]



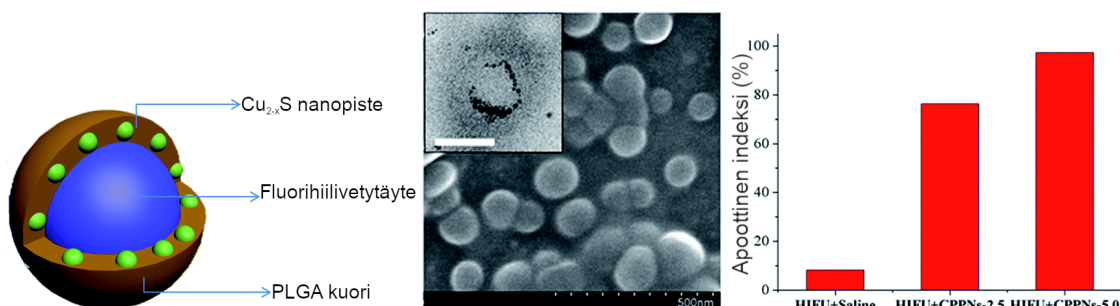
Kuva 5. Ontot preussinsininennanopartikkelit, fluorihilivetytätteen faasinmuutos ultraäänienergian vuoksi. Oikealla näkyy kuinka suuri osa nanopartikkeleiden kuljettamasta lääkeaineesta vapautuu eri pH arvoilla HIFU-käsittelyn myötä ja ilman. Kuvien tekstit käännetty ja yhdistetty osia. Lähde: Zhang *et al.* [48], lisenssi: CC-BY-NC-4.0.

Li *et al.* mukaan metallo-orgaaniset kehitot, joissa metalli-ionit tai metalliklusterit sitoutuvat toisiinsa orgaanisten ligandien avulla, ovat yksi lupaava bionanoteknologinen materiaaliluokka, joka voisi soveltua myös tehosteaineeksi HIFUun. Myös CO<sub>2</sub> kuplia korkeissa lämpötiloissa muodostavat periodiset mesohuokoiset silika-orgaaniset nanopartikkelit ovat eräs potentiaalinen tehosteaineryhmä. [27, 49]

Yao *et al.* ovat kehittäneet PLGA nanokapselin, jonka kuorella on Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> nanopartikkeleita. Nanokapseli toimii tehosteaineena HIFUssa ja Bi<sub>2</sub>S<sub>3</sub> parantaa sädehoitovastetta mahdollistaen säteilyannoksen pienentämisen. Valmistus tapahtuu itsekoonnalla vesi-öljy-vesi prosessissa, halkaisijaksi mitattiin noin 755 nm. [50]

Niu *et al.* ehdottavat itsekoonnalla valmistettavaa nanopartikkelia perfluori-oktylibromidi-ytimellä, seuraavana kerroksena on superparamagneettisia Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartikkeleita ja lohkopolymeerimiselli. Misellin polymeerejä sidottiin toisiinsa tioli-silaanilla, jonka jälkeen pintaan kiinnitettiin PEG:tä bioyhteensopivuuden parantamiseksi. Saatujen nanopartikkelien keskikoko on noin 175 nm. Sisällytetyt Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanopartikkelit, halkaisijaltaan 6 nm, toimivat varjoaineena MRI:ssa. Saatu

nanopartikkeli toimii varjoaineena ultraäänessä ja HIFUssa tehosteaineena. [51]



Kuva 6. Kaaviokuva PLGA nanokapseleista, elektronimikroskoopiakuvia kapseleista nanopisteineen sekä nanokapselin vaikutus HIFUn vasteeseen. Kuvien tekstit käännetty ja käytetty osia. Nanopisteet näkyvät pikkukuvassa (keskellä) mustina täplinä. Oikeanpuolimmaisoin kuva kertoo nanokapseleiden vaikutuksesta HIFUn vasteeseen konsentraatioilla 2,5 mg/mL ja 5,0 mg/mL, jälkimmäisessä tapauksessa kasvain on tuhoutunut käytännössä kokonaan. Lähde: Yao *et al.* [52] lisenssi: CC-BY-3.0.

Yao *et al.* tarkastelevat PLGA nanokapseleita yhdistetyllä fluorihilivety- ja kuparisulfidinanopistetäytteellä (kuva 6), jotka toimivat tehosteaineena HIFUssa ja varjoaineena valoakustisessa kuvantamisessa. Nanokapselin keskimääräinen koko on 120 nm ja nanopisteiden 5,9 nm. [52]

## 2.5 Sovellukset

Ehdotuksia nanopartikkeleiden ja HIFUn yhdistelmää edellyttävistä sovelluksista ei ole vielä montaa, tutkijoiden keskittyessä kehittämään HIFU-käsittelyä tehostavia nanopartikkeleita. Daood ja Fawzy ovat tutkineet hampaiden uudelleenmineralisatiota hydroksiapatiittinotangoilla ja HIFU-käsittelyllä [53]. Lääkeaineen tai vastaavan terapeutin aineen vapauttamista nanopartikkelikuljettimesta HIFUlla on myös tarkasteltu kirjallisuudessa.

Shrestha *et al.* esittävät HIFUn käyttöä viemään antibakteerisia nanopartikkeleita hammasluun kanaviin, kavitaation aiheuttamat voimakkaat suihkut pakottaisivat nanopartikkelit näihin enimmillään muutaman mikrometrin halkaisijaltaan oleviin kanaviin joissa olevia bakteereita on nykyisillä juurihoitomenetelmillä hankala saavuttaa. [54]



### 3 Analyysi

Nanopartikkeleilla voitaisiin parantaa HIFUn reaaliaikaista seuranta hoitovasteen ja yhdistelmäterapioiden lisäksi. Kehitystyön nopeuttamiseksi nanopartikkelien ja HIFUn yhteisvaikutuksen mallintamiseen tulee panostaa merkittävästi, tavoitteen ollessa nanopartikkelien ominaisuuksien ennustaminen.

Nanopartikkelien bioyhteesopivuuteen liittyvien epävarmuuksien odotetaan selviävän systemaattisten arviointimenettelyjen myötä. Myös valmistusprosessien kehitykseen täytyy panostaa. [17, 22]

Vaikka aktiivikohdistus on mutkikas prosessi, pidemmällä tähtäimellä arvioisin siihen panostamisen kannattavan jo EPR-ilmion epävarmuuksienkin vuoksi tehokkaammasta kohdistumisesta puhumattakaan. Anaerobisten bakteerien käyttö kohdistukseen ja muokattuina tehosteaineena on kiintoisa kehityssuunta, joten muidenkin mikrobien käyttöä kannattanee tutkia. [29, 31]

Koska erilaisilla nanopartikkeleilla on omat etunsa ja heikkoutensa kehityksen edetessä päädyttäneen erilaisiin hybrideihin. Vaikka faasinmuutosnanopartikkelit ovat erittäin suosittuja ehdokkaita HIFUn tehosteeksi, muunlaisiin nanopartikkeleihin kannattaisi panostaa lisää suosituimman lajin ongelmien varalta.

On todennäköistä että jokin HIFUn tehosteeksi kelpaava nanopartikkeli hyväksytään tai on jo hyväksytty johonkin muuhun sovellukseen, jolloin voidaan keskittyä tarkastelemaan nanopartikkelin käytöstä elimistössä HIFU-käsittelyn aikana.

Nanopartikkelien ja HIFUn yhdistelmä on erittäin lupaava, mutta vasta kehitteillä oleva, hoitomenetelmä. Jos kliinisiin kokeisiin päästään ennen 2020-luvun puoltaväliä, niin menetelmä voisi saada viranomaishyväksynnän 2030-luvun alussa.

SDT ja nanopartikkeleilla tehostettu HIFU ovat kilpailevia menetelmiä vaikka saattavatkin täydentää osittain toisiaan. Ajan ja lisätutkimusten myötä selviää kumpaa tullaan käyttämään enemmän. Toisaalta voidaan löytää täysin uusia sovelluksia tutkittaessa nanopartikkelien käyttöä ultraäänessä laajemmin.

## 4 Yhteenveto

Ultraääni on taaajuudeltaan yli 20 kHz ääniaaltoja. Sitä käytetään yleisesti diagnostiikassa ja terapiassa, jolloin tehotehoisuus on matala. Ultraäänen kehossa etenemisen kannalta tärkeimmät esteet ovat luut ja kaasutäytteiset alueet.

Sonodynaaminen terapia perustuu reaktiivisten happiyhdisteiden syntyyn hermistimen läsnäollessa ultraäänen vaikutuksesta. Herkistimenä voidaan käyttää esim. nanopartikkeleita. HIFUssa erittäin voimakas ultraäänisäde kohdistetaan muutaman kuutiomillimetrin kokoiselle alueelle tuhoten kohdealueen soluja.

HIFUn haittavaikutusten ja rajoitteiden vähentämiseksi on kehitteillä erilaisia tehosteaineita, joista lupaavimpia ovat erilaiset nanopartikkelit. Nanopartikkelien etuna on kyky poistua verenkierrosta soluväliaineeseen tai jopa solujen sisään sekä mahdollisuus kuljettaa esimerkiksi lääkkeitä kohteeseen.

Tarkastellut nanopartikkelityypit voidaan luokitella rakenteen ja materiaalien perusteella, pääluokat ovat orgaaniset, epäorgaaniset, edellisten hybridit, nanokuplat ja mesohuokoiset piioksidinanopartikkelit.

HIFUn tehosteeksi sopivien nanopartikkelien bioyhteensopivuudesta ei ole täyttä varmuutta ja myös kokonaisprosessin vaikutukset on tunnettava. Tehostevaikutuksen arvellaan johtuvan kasvaneesta absorptiosta ja kavitaation voimistumisesta. Nanopartikkelien kohdistamiseen on useita menetelmiä.

Parhaiden kandidaattien löytäminen lukuisten nanopartikkelivaihtoehtojen joukosta on iso urakka. Orgaaninen-epäorgaaninen-hybridinanopartikkeleilla pyritään yhdistämään molempia tyyppien parhaat puolet. Mesohuokoisten piioksidinanopartikkelien kehitys on kenties pisimmällä.

Useimmilla tarkastelluilla nanopartikkeilla on vielä matkaa kliinisiin kokeisiin bioyhteensopivuustarkastelun puutteiden vuoksi. Ensisijainen käyttökohde nanopartikkeille HIFUssa on kasvainten tuhoamisen tehostaminen, muita mahdollisuuksia on ainakin hammashoidossa ja lääkkeiden vapautuksessa.

## Viitteet

- [1] Z. Izadifar, Z. Izadifar, D. Chapman ja P. Babyn, *Journal of clinical medicine* **9**, 460 (2020).
- [2] I. S. Elhelf, H. Albahar, U. Shah, A. Oto, E. Cressman ja M. Almekkawy, *Diagnostic and Interventional Imaging* **99**, 349 (2018).
- [3] J. Beik, Z. Abed, F. S. Ghoreishi, S. Hosseini-Nami, S. Mehrzadi, A. Shakeri-Zadeh ja S. K. Kamrava, *Journal of Controlled Release* **235**, 205 (2016).
- [4] R. L. Manthe, S. P. Foy, N. Krishnamurthy, B. Sharma ja V. Labhasetwar, *Molecular Pharmaceutics* **7**, 1880 (2010).
- [5] H. Huang, W. Feng, Y. Chen ja J. Shi, *Nano Today* **35**, 100972 (2020).
- [6] M. Mischi, N. Rognin ja M. Averkiou, kirjassa *Comprehensive Biomedical Physics*, toimittanut A. Brahme (ElsevierOxford, 2014), pp. 361–385.
- [7] M. Demi, kirjassa *Comprehensive Biomedical Physics*, toimittanut A. Brahme (ElsevierOxford, 2014), pp. 297–322.
- [8] D. L. Miller, N. B. Smith, M. R. Bailey, G. J. Czarnota, K. Hynynen, I. R. S. Makin ja B. C. of the American Institute of Ultrasound in Medicine, *Journal of Ultrasound in Medicine* **31**, 623 (2012).
- [9] D. Miller, kirjassa *Comprehensive Biomedical Physics*, toimittanut A. Brahme (ElsevierOxford, 2014), pp. 437–463.
- [10] Y. Chen, H. Chen ja J. Shi, *Advanced Healthcare Materials* **4**, 158 (2015).
- [11] H. Lee, H. Kim, H. Han, M. Lee, S. Lee, H. Yoo, J. H. Chang ja H. Kim, *Biomedical Engineering Letters* **7**, 59 (2017).
- [12] G. Canavese, A. Ancona, L. Racca, M. Canta, B. Dumontel, F. Barbaresco, T. Limongi ja V. Cauda, *Chemical Engineering Journal* **340**, 155 (2018).
- [13] X. Qian, Y. Zheng ja Y. Chen, *Advanced Materials* **28**, 8097 (2016).
- [14] M. R. Pfeffer, T. Rabin, Y. Inbar, A. Hananel ja R. Catane, kirjassa *Image-Guided Cancer Therapy: A Multidisciplinary Approach*, toimittanut D. E. Dupuy, Y. Fong ja W. N. McMullen (Springer New YorkNew York, NY, 2013), pp. 79–99.
- [15] A. Yildirim, N. T. Blum ja A. P. Goodwin, *Theranostics* **9**, 2572 (2019).
- [16] C. P. Phenix, M. Togtema, S. Pichardo, I. Zehbe ja L. Curiel, *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences* **17**, 136–153 (2014).
- [17] X. Cui, X. Han, L. Yu, B. Zhang ja Y. Chen, *Nano Today* **28**, 100773 (2019).

- [18] L. Yu, P. Hu ja Y. Chen, *Advanced Materials* **30**, 1801964 (2018).
- [19] E. Huynh, M. A. Rajora ja G. Zheng, *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology* **8**, 796 (2016).
- [20] A. Yildirim, D. Shi, S. Roy, N. T. Blum, R. Chattaraj, J. N. Cha ja A. P. Goodwin, *ACS Applied Materials & Interfaces* **10**, 36786 (2018).
- [21] P. Tharkar, R. Varanasi, W. S. F. Wong, C. T. Jin ja W. Chrzanowski, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* **7**, 324 (2019).
- [22] Z. Wang, R. Qiao, N. Tang, Z. Lu, H. Wang, Z. Zhang, X. Xue, Z. Huang, S. Zhang, G. Zhang ja Y. Li, *Biomaterials* **127**, 25 (2017).
- [23] B. Yang, Y. Chen ja J. Shi, *Chem. Rev.* **119**, 4881 (2019).
- [24] Y. Zhou, M. Wang ja Z. Dai, *Mater. Chem. Front.* **4**, 2223 (2020).
- [25] H. Tang, Y. Zheng ja Y. Chen, *Advanced Materials* **29**, 1604105 (2016).
- [26] L. Li, Y. Guan, H. Xiong, T. Deng, Q. Ji, Z. Xu, Y. Kang ja J. Pang, *Nano Select* **1**, 263 (2020).
- [27] S. Li, L. Tan ja X. Meng, *Advanced Functional Materials* **30**, 1908924 (2020).
- [28] M. Sadeghi-Goughari, S. Jeon ja H. J. Kwon, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* **67**, 3083 (2020).
- [29] A. S. Taleghani, A. T. Nakhjiri, M. J. Khakzad, S. M. Rezayat, P. Ebrahimejad, A. Heydarinasab, A. Akbarzadeh ja A. Marjani, *Journal of Molecular Liquids* **328**, 115417 (2021).
- [30] L. Yan, J. Shen, J. Wang, X. Yang, S. Dong ja S. Lu, *Dose-Response* **18**, 1559325820936161 (2020).
- [31] C. Chen, Y. Wang, Y. Tang, L. Wang, F. Jiang, Y. Luo, X. Gao, P. Li ja J. Zou, *International Journal of Hyperthermia* **37**, 870 (2020).
- [32] A. Liberman, Z. Wu, C. V. Barback, R. D. Viveros, J. Wang, L. G. Ellies, R. F. Mattrey, W. C. Trogler, A. C. Kummel ja S. L. Blair, *Journal of Surgical Research* **190**, 391 (2014).
- [33] X. Zhang, Y. Zheng, Z. Wang, S. Huang, Y. Chen, W. Jiang, H. Zhang, M. Ding, Q. Li, X. Xiao, X. Luo, Z. Wang ja H. Qi, *Biomaterials* **35**, 5148 (2014).
- [34] N. Chang, S. Lu, D. Qin, T. Xu, M. Han, S. Wang ja M. Wan, *Ultrasonics Sonochemistry* **45**, 57 (2018).
- [35] B. Yang, Y. Chen ja J. Shi, *Materials Science and Engineering: R: Reports* **137**, 66 (2019).

- [36] Y. Zhou, X. Han, X. Jing ja Y. Chen, *Advanced Healthcare Materials* **6**, 1700646 (2017).
- [37] X. Wang, H. Chen, Y. Zheng, M. Ma, Y. Chen, K. Zhang, D. Zeng ja J. Shi, *Biomaterials* **34**, 2057 (2013).
- [38] A. Yildirim, R. Chattaraj, N. T. Blum, D. Shi, K. Kumar ja A. P. Goodwin, *Advanced Healthcare Materials* **6**, 1700514 (2017).
- [39] Y. Chen, H. Chen, Y. Sun, Y. Zheng, D. Zeng, F. Li, S. Zhang, X. Wang, K. Zhang, M. Ma, Q. He, L. Zhang ja J. Shi, *Angewandte Chemie International Edition* **50**, 12505 (2011).
- [40] N. T. Blum, A. Yildirim, C. Gyorkos, D. Shi, A. Cai, R. Chattaraj ja A. P. Goodwin, *ACS Applied Materials & Interfaces* **11**, 15233 (2019).
- [41] K. Zhang, H. Chen, F. Li, Q. Wang, S. Zheng, H. Xu, M. Ma, X. Jia, Y. Chen, J. Mou, X. Wang ja J. Shi, *Biomaterials* **35**, 5875 (2014).
- [42] A. Yildirim, R. Chattaraj, N. T. Blum ja A. P. Goodwin, *Chemistry of Materials* **28**, 5962 (2016).
- [43] J. R. McLaughlan, D. M. J. Cowell ja S. Freear, *Physics in Medicine & Biology* **63**, 015004 (2017).
- [44] S. Moosavi Nejad, H. Takahashi, H. Hosseini, A. Watanabe, H. Endo, K. Narihira, T. Kikuta ja K. Tachibana, *Ultrasonics Sonochemistry* **32**, 95 (2016).
- [45] H. Li, C. Yu, J. Zhang, Q. Li, H. Qiao, Z. Wang ja D. Zeng, *International Journal of Pharmaceutics* **556**, 226 (2019).
- [46] H. Yang, F. Jiang, X. Ji, L. Wang, Y. Wang, L. Zhang, Y. Tang, D. Wang, Y. Luo, N. Li, Q. Wang ja J. Zou, *International journal of nanomedicine* **16**, 105 (2021).
- [47] X. Qian, X. Han ja Y. Chen, *Biomaterials* **142**, 13 (2017).
- [48] N. Zhang, X. Cai, W. Gao, R. Wang, C. Xu, Y. Yao, L. Hao, D. Sheng, H. Chen, Z. Wang ja Y. Zheng, *Theranostics* **6**, 404 (2016).
- [49] H. Li, C. Gascó, A. Delalande, C. Charnay, L. Raehm, P. Midoux, C. Pichon, R. Pleixats ja J.-O. Durand, *Molecules* **25**, 974 (2020).
- [50] M. hua Yao, M. Ma, Y. Chen, X. qing Jia, G. Xu, H. xiong Xu, H. rong Chen ja R. Wu, *Biomaterials* **35**, 8197 (2014).
- [51] D. Niu, X. Wang, Y. Li, Y. Zheng, F. Li, H. Chen, J. Gu, W. Zhao ja J. Shi, *Advanced Materials* **25**, 2686 (2013).
- [52] M. Yao, M. Ma, H. Xu, X. Pan, G. Xu ja R. Wu, *RSC Adv.* **8**, 4514 (2018).

- [53] U. Daood ja A. Fawzy, *Dental Materials* **36**, 456 (2020).
- [54] A. Shrestha, S.-W. Fong, B.-C. Khoo ja A. Kishen, *Journal of Endodontics* **35**, 1028 (2009).
- [55] X. Lin, J. Song, X. Chen ja H. Yang, *Angewandte Chemie International Edition* **59**, 14212 (2020).