

УДК 577.3

**ЛИПОСОМАЛЬНЫЕ ФОРМЫ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ
ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ И ХАРАКТЕРИСТИКИ
ИХ НАКОПЛЕНИЯ В КЛЕТКАХ**

¹Зорина Т.Е., ¹Янковский И.В., ¹Кравченко И.Е., ²Тарасова А.В.,
²Шман Т.В., ¹Зорин В.П.

¹*Белорусский государственный университет, г. Минск.*

²*РНПЦ детской онкологии, гематологии и иммунологии, г. Минск*

Использование липидных везикул – один из наиболее распространенных способов введения нерастворимых в воде порфириновых фотосенсибилизаторов (ФС) при проведении фотодинамической терапии (ФДТ). Применение подобных систем доставки существенно изменяет фармакокинетику сенсibilизаторов, так как процессы их биораспределения в этом случае зависят как от свойств самого фотоактивного соединения, так и от структурных характеристик частиц-носителей.

В данной работе представлены результаты исследования процессов накопления в клетках ФС хлороинового ряда: хлорина e_6 (Хл e_6), диметилового эфира хлорина e_6 (ДМЭ) триметилового эфира хлорина e_6 (ТМЭ), при их введении в составе липосомальных форм. В работе использовали обычные и стерически стабилизированные липидные везикулы, приготовленные из димиристоил-фосфатидилхолина (ДМФХ) методом экструзии. Исследовали накопление пигментов в лейкоцитах крови доноров, клетках костного мозга больных миелобластным лейкозом, культуральных клетках Raji с использованием проточного цитофлуориметра FACScan (Beckton-Dickinson, США), согласно стандартной методике. Характеристики процессов накопления ФС клетками определяли на основании измерений интенсивности флуоресценции в полосе испускания хлоринов. Средние значения интенсивности флуоресценции клеточных популяций в каждом временном интервале рассчитывали с помощью статистического пакета программ Cell Quest Pro.

Результаты исследования кинетики окрашивания клеток в присутствии липосомальных форм ФС показали, что в сравнении с растворами органических растворителей введение пигментов в составе липосомальных форм существенно изменяет эффективность их накопления в клетках. Увеличение отношения липид:фотосенсибилизатор в составе липосомальных форм приводит к значительному снижению скорости включения ФС в клетки.

Введение в среду инкубации эмбриональной сыворотки телят (ЭСТ) оказывает разнонаправленное влияние на процессы окрашивания клеток липосомальными формами производных Хл e_6 (рис. 1).

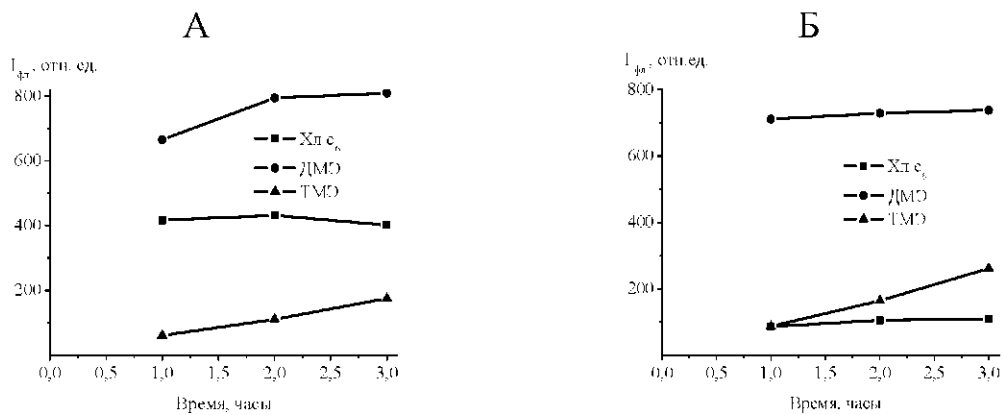


Рисунок 1 – Кинетика накопления Хл e_6 и липосомальных форм ДМЭ и ТМЭ в культуральных клетках Raji в среде без ЭСТ (А) и в присутствии ЭСТ (Б).
Соотношение пигмент : ДМФХ=1:40

Добавление ЭСТ в количестве от 5% до 20% слабо влияет на кинетику связывания клетками ДМЭ. Для Хл e_6 в присутствии сыворотки наблюдается существенное снижение скорости и уровня равновесного окрашивания клеток в сравнении с бессывороточной средой. В случае липосомальных форм ТМЭ добавление

20% сыворотки приводит к увеличению в 1,8-2,0 скорости накопления фотосенсибилизатора в клетках.

Ранее было установлено, что процессы распределения порфириновых сенсibilизаторов в суспензии липидных везикул, а также в клеточных системах определяются их относительным сродством к мембранным структурам, константами скоростей, характеризующих скорость миграции порфиринов между различными центрами связывания, а также способностью проникать через биологические мембраны [1]. Количественное определение данных характеристик показало, что степень аффинности к липосомальным и клеточным мембранам, определяемая величиной коэффициента распределения мембрана:среда, для различных производных Хл e_6 изменяется на несколько порядков [1]. Наибольшим сродством к мембранным структурам характеризуются неполярные фотосенсибилизаторы ДМЭ и ТМЭ. Скорость миграции ФС между различными центрами связывания также сильно зависит от степени полярности хлоринов, при этом константы скоростей межмембранного и трансмембранного перемещения изменяются разнонаправлено. Если перемещение 50% молекул ТМЭ между различными липидными везикулами осуществляется в течение десятков минут, то в случае полярного Хл e_6 для этого требуется всего несколько секунд. В тоже время трансмембранная диффузия ТМЭ и ДМЭ осуществляется со скоростью в десятки и сотни раз большей в сравнении с полярными Хл e_6 и монометиловым эфиром хлорина e_6 .

При рассмотрении процессов распределения ФС в средах, содержащих сыворотку крови, необходимо дополнительно учитывать взаимодействие ФС и их липосомальных форм с основными транспортными белками плазмы. Полярный Хл e_6 характеризуется очень высоким сродством в отношении сывороточного альбумина. Добавление сыворотки приводит к появлению во внеклеточной среде большого количества дополнительных центров связывания данного ФС, что, при условии низкой мембранной проницаемости, значительно снижает скорость накопления в клетках. Относительно низкое сродство неполярных ДМЭ и ТМЭ к белкам плазмы по сравнению с клеточной мембраной, вероятно, обуславливает отсутствие торможения процессов их накопления в клетках при добавлении сыворотки крови. Взаимодействие липосомальных носителей с белками плазмы может увеличивать скорость выхода ТМЭ и, как следствие этого, увеличивает скорость накопления пигмента в клетках.

Работа выполнена при поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований, грант Б11Ф-004

Литература:

1. Зорин, В.П., Хлудеев, И.И., Зорина, Т.Е. Распределение порфириновых сенсibilизаторов между белковыми и клеточными элементами крови // Биофизика. – 2000. – Т. 45, вып.2. – С. 313-319.

**PHOTOSENSITIZER LIPOSOMAL FORMULATIONS
FOR PHOTODYNAMIC THERAPY AND THEIR ACCUMULATION BY CELLS**

Zorina T.E., Yankovsky I.V., Kravchenko I.E., Tarasova A.V.,
Shman T.V., Zorin V.P.

The features of chlorine e_6 derivatives liposomal formulations accumulation by several types cells have been compared.