

ФОТОДИНАМИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ ПЕРФТОРУГЛЕРОДОВ И ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА

Неверов К.В.¹, Прусов А.Н.², Киреев И.И.²

¹ *Институт биохимии им А.Н.Баха, ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия*

² *Институт физико-химической биологии им. А.Н.Белозерского,
МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия*

Фотодинамическая терапия (ФДТ), являясь перспективным способом лечения раковых опухолей, имеет существенное ограничение, т.к. содержание кислорода в строме опухоли снижено на два порядка величины. В процессе облучения опухоли после накопления фотосенсибилизатора (ФС) кислород быстро истощается, что замедляет генерацию активных форм кислорода и снижает эффективность ФДТ. Эта трудность может быть преодолена введением ФС в организм в составе искусственной газотранспортной системы, способной улучшить доступ кислорода к клеткам опухоли.

Нами была предложена композиция на базе ПерфторанаTM – «искусственной крови» – стабилизированной мелкодисперсной эмульсии перфторуглеродов в физрастворе. Этот препарат снижает уровень гипоксии в тканях при повреждении капиллярного русла, отеках и подобных случаях. В перфторановую эмульсию вводили ФС бактериохлоринового типа в конечной концентрации 0,03–0,1 мкМ. Было установлено, что в полученной композиции «Перфторан-фотосенсибилизатор» (ПФ-ФС) пигмент находится в мономерной, неагрегированной форме, что сохраняет его способность к фотогенерации активного синглетного кислорода с высоким квантовым выходом.

Фотодинамическая активность препарата ПФ-ФС была протестирована на клеточных культурах HeLa. Композиция добавлялась в чашки Петри с клеточным монослоем (соотношение ПФ-ФС со средой культивирования – 1:1), клетки инкубировались в течение 1 часа, затем облучались красным светом ($\lambda > 640$ нм, $I = 130$ мВт/см²), который хорошо поглощается ФС. Суммарная доза облучения составляла 80–500 Дж/см². Клетки фиксировались либо сразу после окончания облучения, либо через 16 ч постинкубации при 37⁰С. После этого клеточные монослои окрашивались DAPI с целью подсчета соотношения митозов, апоптозов и интерфазных состояний клеток в культуре.

После немедленной фиксации облученных клеток, инкубированных с ПФ-ФС, мы наблюдали увеличение доли апоптозных клеток и предапоптозных состояний. При фиксации клеток через 16 ч постинкубации в культурах, облученных большими дозами света, регистрировалось 20–30% апоптозов от общего числа клеток. Инкубация клеток с ПФ-ФС вызывала быстрое падение митотического индекса, пропорциональное суммарным дозам облучения. При быстрой фиксации клеток митотический индекс падал в 4–5 раз (60 мин облучения), после отдаленной фиксации митозов практически не наблюдалось, что говорит о полном подавлении клеточного деления в культуре.

ДНК-электрофорез образцов облученных культур, инкубированных с ПФ-ФС, подтвердил, что деградация ДНК происходит путем апоптоза, и эффект значительно усиливается для клеток, фиксированных через 16 ч постинкубации. Кроме того, нами было показано повреждение плазмалеммы и митохондриальных мембран у облученных клеток, что указывает на то, что ФС локализуется не только на внешней клеточной мембране, но и транспортируется в митохондрии.

Полученные данные свидетельствуют о высокой фотодинамической активности созданного нами препарата ПФ-ФС и демонстрируют отсутствие у него темнового токсического действия на клеточные культуры. Это делает возможным дальнейшее исследование ПФ-ФС на более сложных моделях с целью применения его в ФДТ.