

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ НАКОПЛЕНИЯ ЭНДОГЕННЫХ ПОРФИРИНОВ РАКОВЫМИ И НЕТРАНСФОРМИРОВАННЫМИ КЛЕТКАМИ В УСЛОВИЯХ *IN VITRO*

Плавский В.Ю., Дудинова О.Н., Плавская Л.Г., Собчук А.Н., Третьякова А.И., Микулич А.В., Ананич Т.С., Нагорный Р.К., Леусенко И.А., Якимчук С.В.

Институт физики НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Цель настоящих исследований состояла в изучении накопления эндогенных порфиринов, обладающих сенсибилизирующими свойствами, раковыми клетками (клетки глиомы мозга крысы *Sb*; клетки эпителиоидной карциномы шейки матки *HeLa*) и нетрансформированными клетками (клетки почки зеленой африканской марьшишки *BGM*) в условиях *in vitro*. Кроме того, выполнены сравнительные исследования эффективности самосенсибилизированной инактивации указанных клеток (использовался калориметрический МТТ-анализ) при воздействии излучения синей области спектра за счет возбуждения эндогенных соединений, способных к генерации активных форм кислорода.

Для решения поставленных задач разработаны спектрально-флуоресцентные методы детектирования и идентификации эндогенных порфиринов в клетках различных типов. Решение указанной проблемы осложняется сильным рассеянием света клетками, интенсивным свечением эндогенных флавинов (флавиномононуклеотид, флавинаденидинуклеотид), чрезвычайно низкой концентрацией тетрапирролов ($C < 10^{-9}$ М) и относительно низким квантовым выходом их флуоресценции (для протопорфирина IX в водном растворе $\phi < 0,01$). По этой причине для обнаружения эндогенных порфиринов производили их экстрагирование растворителями (ацетон, 3 М соляная кислота), в которых порфирины обладают достаточно высоким квантовым выходом флуоресценции ($\phi \approx 0,10-0,20$), а интенсивность люминесценции флавинов в той или иной степени потушена. Исследования показали, что среди флуоресцирующих тетрапиррольных соединений в клетках преобладают безметалльные порфирины (протопорфирин IX, копропорфирин III, уропорфирин III), а также цинковый комплекс протопорфирина IX. Установлено, что при одинаковой концентрации нетрансформированных и раковых клеток в суспензии (их концентрация оценивалась с помощью гемоцитометра), концентрация порфириновых фотосенсибилизаторов в супернатанте раковых клеток примерно в 1,5 раза выше.

Установлено, что несмотря на невысокую концентрацию указанных эндогенных порфиринов в клетках, они способны сенсибилизировать их инактивацию при воздействии в энергетической дозе 3-15 Дж/см² синего света (применялись светодиодные источники с длиной волны в максимуме спектра испускания $\lambda_{\max} = 405, 440$ и 465 нм). Констатировано, что при воздействии излучения с длиной волны $\lambda_{\max} = 405$ нм и $\lambda_{\max} = 440$ нм отмечается дозависимое снижение метаболической активности клеток. При воздействии излучения $\lambda_{\max} = 465$ нм в относительно низких энергетических дозах $D = 4,5-7,5$ Дж/см² наблюдается незначительный, но достоверно регистрируемый ($p < 0,05$) стимулирующий эффект, который практически не проявляется при увеличении дозы до $D = 15$ Дж/см². При одинаковой энергетической дозе максимальный ингибирующий эффект отмечается при воздействии на клетки излучения с длиной волны $\lambda_{\max} = 405$ нм, соответствующей максимуму полосы Сорре порфиринов. Однако вклад в наблюдаемые биологические эффекты синего света могут вносить и эндогенные флавиновые фотосенсибилизаторы, что особенно проявляется при действии излучения с длиной волны $\lambda_{\max} = 440$ нм, соответствующей максимуму спектра поглощения флавинов. Впервые показано, что основной вклад в инактивацию клеток синим светом вносит не синглетный кислород, а перекись водорода. При этом раковые клетки, накапливающие более высокие концентрации эндогенных порфиринов, характеризуются и большей чувствительностью к действию синего света по сравнению с нетрансформированными клетками.