Зорина Т.Е.[1], Кравченко И.Е.[1], Ермилова Т.И.[2], Шман Т.В.[2], Зорин В.П.[1]

Термочувствительные липосомальные носители фотосенсибилизаторов

Белорусский государственный университет, Минск, Республика Беларусь
[2]РНПЦ Детской онкологии, гематологии и иммунологии, Боровляны, Республика Беларусь

Использование специальных фармакологических форм для водонерастворимых фотосенсибилизатороа (ФС) позволяет предотвратить их агрегацию в крови после введения, а также существенно влиять на уровень и кинетику накопления ФС в клетках- и тканях-мишенях. Липосомальные формы ФС (ЛФ) являются фотоактивными наноструктурными комплексами, свойства которых в значительной степени влияют на эффективность применения ряда ФС. Ранее было показано, что использование ЛФ для введения этерифицированных производ-

ных хлорина e_6 (ПХл e_6) существенно влияет на уровень накопления и цитотоксичность их в клетках [1]. Способность липидных наноносителей модифицировать процессы биораспределения ФС в значительной степени контролируется фазовым состоянием их липидного бислоя. Изменение физтческого состояния липидных мембран посредством вариаций температуры среды или состава наноносителей может быть использовано для управления процессами распределения ФС в клеточных и тканевых системах.

Цель работы. Оценка роли температурного фактора в процессах накопления и перераспределения ФС, введенных в составе липидных везикул, в клеточных культурах.

Материалы и методы: Работа проведена на культуральных клетках лейкемических линий Raji и K562 с использованием экструзионных липосом (метод Бенгема), из димеристоилфосфатидилхолина (ДМФХ), дипальмитоилфосфатидилхолина (ДПФХ), а также пегилированных ЛФ с включенными ПХл e_6 - диметиловым и триметиловым эфирами хлорина e_6 (ДМЭ, ТМЭ соответственно).

Процессы накопления, выведения и межклеточного перераспределения ФС исследовали на проточном цитофлуориметре FC 500 (Beckman Coulter, США).

Результаты. Исследовано влияние температуры среды на скорость накопления в клетках ПХл e_6, введенных в составе липосомальных наноносителей, а также на кинетику элиминации хлоринов из клеток при перераспределении на белки сыворотки и неокрашенные клетки. Скорости внутриклеточного накопления для всех типов ЛФ хлоринов минимальны при температурах 0 ^{0}C – 6 ^{0}C. Спустя 3 часа инкубирования в среде, содержащей ЛФ ПХл e_6, наблюдается лишь незначительная флуоресценция клеток. При нагреве клеточных культур происходит ускорение процессов связывания и локализации хлоринов в клетках практически во всем исследованном интервале температур (до 43 ^{0}C). Данная закономерность нарушается лишь в температурных интервалах, соответствующих фазовым переходам липидного бислоя в липосомальных носителях. При температуре 20-23 ^{0}C для ЛФ из ДМФХ и 39-42 ^{0}C для ЛФ из ДПФХ происходит скачкообразное снижение скорости накопления фотосенсибилизаторов в клетках. Данный эффект более выражен в случае неполярных ДМЭ и ТМЭ по сравнению с Хл e_6.

В отличие от процессов накопления ЛФ хлоринов кинетические характеристики элиминации ПХл e_6 из клеток в сыворотке и клеточных суспензиях при изменении температуры строго монотонны.

Стерическая стабилизация липидных везикул не влияет на процессы накопления и распределения неполярных ПХл e_6 в исследованных системах. Можно предположить, что скорость выхода исследованных хлоринов из липосом превышает скорость разрушения липидных везикул в сыворотке крови как для стабилизированных, так и для классических ЛФ.

Полученные результаты согласуются с данными о влиянии фазового состояния липидного бислоя на равновесные и кинетические характеристики распределения хлоринов в биологических и клеточных мембранах.

Заключение: Температура, липосомальная композиция являются важными детерминантами, определяющими процессы распределения ФС в клеточных системах.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ, грант №М20Р-279.

Литература

1. Zorina T.E., Yankovsky I.V., Kravchenko I.E., Shman T.V., Belevtsev M.V., Zorin V.P. Evaluation of Phototoxicity and Cytotoxicity for Chlorin e_6 Ester Derivatives and Liposomal Forms//Biophysics. – 2015. – V. 60, № 5. – P. 759-766.