

Плехова Наталья Геннадьевна¹, Радькова Людмила Ивановна², Степанюгина Александра Константиновна²

ФОТОДИНАМИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ В ОНКОЛОГИИ И ХЛОРОФИЛЛ

¹ ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Владивосток, Россия

Конец XX века в экономически и социально развитых странах на настоящий момент отмечается некоторое превосходство онкологических заболеваний, по причине которых умирает в два раза больше людей. В связи с этим, острой проблемой является разработка способов и технологий лечения злокачественных новообразований и, на данный момент, медицинская практика насчитывает множество таких способов. В числе создания относительно новых методов терапии, избирательно разрушающих опухолевую ткань, разработана фотодинамическая терапия (ФДТ), которая дает возможность селективного действия препаратов на опухоль.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотосенсибилизатор, хлорофилл, синглетный кислород, опухолевые клетки, рак кожи

Plekhova Natalya Gennadievna¹, Radkova Lyudmila Ivanovna², Stepanyugina Alexandra Konstantinovna²

PHOTODYNAMIC THERAPY IN ONCOLOGY AND CHLOROPHYLL

At the end of the twentieth century, in economically and socially developed countries there is currently a certain superiority of cancer diseases due to which twice as many people die. In this regard, an acute problem is the development of methods and technologies for the treatment of malignant neoplasms and, at the moment, medical practice includes many such methods. Among the creation of relatively new methods of therapy that selectively destroy tumor tissue, photodynamic therapy (PDT) has been developed, which makes it possible to selectively act drugs on the tumor.

Keywords: photodynamic therapy, photosensitizer, chlorophyll, singlet oxygen, tumor cells, skin cancer

Конец XX века характеризуется фантастическим увеличением продолжительности жизни и в качестве основных причин смерти населения переходом от инфекционных к хроническим дегенеративным заболеваниям [2]. Основной причиной смертности остаются сердечно-сосудистые заболевания, но в экономически и социально развитых странах на настоящий момент отмечается некоторое превосходство онкологических заболеваний по причине которых умирает в два раза больше людей. В связи с этим, острой проблемой является разработка способов и технологий лечения злокачественных новообразований и, на данный момент, медицинская практика насчитывает множество таких способов [3]. В числе создания относительно новых методов терапии, избирательно разрушающих опухолевую ткань, разработана фотодинамическая терапия (ФДТ), которая дает возможность селективного действия препаратов на опухоль. Этот метод лечения злокачественных опухолей, основан на способности фотосенсибилизаторов (ФС) селективно накапливаться в ткани опухолей и при локальном воздействии облучения с определенной длиной волны генерировать образование синглетного кислорода и его активных радикалов (ROS), которые оказывают повреждающее действие на опухолевые клетки. Такой комплекс воздействует на опухолевую ткань

многофакторно, включая повреждение и гибель клеток, опосредованное реактивными формами кислорода, изменение структуры кровеносных сосудов опухоли и активацию иммунитета организма.

Эффективность ФДТ зависит от свойств фотосенсибилизирующих препаратов, их селективности, усиления фотопродукции реактивных частиц, поглощения в ближнем инфракрасном спектре и стратегий доставки лекарств. Продолжается поиск новых ФС с улучшенными терапевтическими свойствами, поглощающих свет в ближней инфракрасной области в диапазоне 720-850 нм и характеризующихся более высоким квантовым выходом генерации синглетного кислорода и/или свободных радикалов. Так как, наибольшая глубина проникновения света в ткани наблюдается при увеличении длины волны, вещества с сильной абсорбцией в красной области спектра, такие как хлорины, бактериохлорины и фталоцианины, перспективны для создания более эффективных ФС. Идеальный ФС должен быть химически чистым соединением, соответствовать производственной практике производства лекарственных средств «Good Manufacturing Practice» с контролем качества и низкими производственными затратами. Он должен иметь значительный пик поглощения в спектральной области от красного до ближнего инфракрасного диапазона, поскольку поглощение одиночных фотонов с длинами волн более 800 нм не обеспечивает достаточно энергии для возбуждения кислорода до его синглетного состояния [1]. В результате анализа большого объема материалов сформулированы основные требования к оптимальному ФС, включающие биологические (токсические и фармакокинетические), фотофизические и химико-технологические критерии [4]. К ним относятся низкая темновая и световая токсичность в терапевтических дозах, химическая чистота, постоянный неизменный состав, высокая селективность накопления в тканях злокачественных новообразований и быстрое выведение ФС из кожи и эпителиальной ткани, сильное поглощение в спектральном диапазоне и другие свойства.

В настоящее время известно более 1000 соединений, которые способны выступать в качестве фотосенсибилизирующих агентов. Для их классификации в литературе предложено несколько основополагающих различных принципов [7]. Первая группа представлена фотосенсибилизаторами, которые являются производными протопорфирина IX (PpIX), являющееся предшественником гема, цитохрома и хлорофиллов. Состоит из порфиринового ядра и тетрапирролового макроцикла. На основе PpIX получено значительное количество международных фармакологических препаратов. ФС тетрапиррольной структуры широко используются в ФДТ из-за их уникальных диагностических и терапевтических функций. Тем не менее, клиническое использование ФС первого поколения (порфимер натрия и гематопорфирины) выявило такие трудности, как длительная фоточувствительность кожи, недостаточное проникновение в глубоко расположенные опухоли и неправильная локализация

на ней. Второе поколение основано на различных подходах синтеза и конъюгации порфириновых ФС с биомолекулами, что позволило приблизиться к таргетной ФДТ опухолей. Несмотря на то, что разработка ФС второго поколения началась около 30 лет назад, эти технологии до сих пор востребованы и интенсивно развиваются, особенно в направлении совершенствования процесса оптимизации сплит-линкеров, реагирующих на ввод. Биоконъюгация и инкапсуляция таргетирующими молекулами являются одними из основных стратегий разработки синтеза ФС. Адресная система доставки лекарств с эффектом повышенной проницаемости и удержания опухолевыми клетками является одной из конечных целей синтеза ФС третьего поколения.

По сравнению с порфинами, ФС хлороинового ряда привлекают большее внимание по причине их свойства интенсивно поглощать энергию излучения в ближней инфракрасной области (650 нм) [5]. Бактериохлорины представляют собой класс тетрапиррольных макроциклов с двумя ненасыщенными пиррольными кольцами. Эта кольцевая структура встречается в фотосинтетических пигментах (бактериохлорофиллах а и b) пурпурных фотосинтезирующих бактерий отрядов Rhodospirillales и Rhizobiales [6]. Бактериохлорины обладают преимуществом перед другими соединениями, а именно максимальным поглощением в ближней инфракрасной области (740–780 нм), что делает возможным глубокое проникновение света в ткани животных, т.е. ~ 8 мм [8]. Однако многие природные и полученные естественным путем бактериохлорины показывают низкий выход из бактериальной культуры.

Многие природные порфирины не растворимы в воде, тогда как хлорофилл и его производные являются гидрофильными соединениями. Они способны образовывать металлокомплексы с ионами переходных металлов, формируя металлопорфирины. В этой реакции отщепляются два протона NH-группы, происходит почти полное разрушение координационной сферы исходной соли и формирование принципиально иной координационной сферы с чрезвычайно сильным взаимодействием металл – порфирин. Новосинтезированные производные хлорофилла-а, в сравнении с порфиринами имеют несколько преимуществ, а именно, относительно более глубокое проникновение света в ткани за счет поглощения света с большей длиной волны, избирательное накопление в ткани-мишени и оказывают минимальный побочный эффект на окружающие здоровые клетки [9]. Феофорбиды А представляют собой катаболит хлорофилла-а, обладающие обширным потенциалом для использования в ФДТ. Показано, что эти производные хлорофилла-а локализуются в основном в цитоплазматической области клеток и частично в лизосомах в виде свободных или конъюгированных молекул [10]. Природное соединение хлорофилл допированное квантами способны возбуждаться за счет резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET). При возбуждении этих частиц длиной волны 365 нм FRET возникает

передача энергии между квантами и хлорофиллином, что приводит к образованию ROS, как в водной среде, так и в клетках, тем самым подтверждая потенциал этого состава при ФДТ.

С 2018 года при сотрудничестве с ООО «ЦЕНТР РЕГИОН» (г. Москва) нами разрабатывается и характеризуется молекулярный конъюгат на основе фотосенсибилизатора магнийсодержащего хлорофилла (CuChlNa). Целью настоящего исследования является разработка нового лекарственного средства для ФДТ злокачественных новообразований, способного достигать опухолей различной локализации, обеспечивать эффективную генерацию активных форм кислорода при воздействии длин волн светового диапазона. В сравнении с хлорином е6 (Ce6), хлорофиллин демонстрирует более выраженные фотосенсибилизирующие свойства. Нами проведено исследование противоопухолевой активности этого вещества. Опухоль Эрлиха 1×10^6 клеток/мл инкубировали с Ce6 и CuChlNa в различных концентрациях и в течение 15 мин подвергали фотодинамическому облучению полупроводниковым лазером с выходной мощностью 32 мВт на длине волны света 650 нм, дающем облучение в дозе 6 Дж / см². После 6-дневного воздействия CuChlNa выявлено более $77 \pm 6,1\%$ апоптотически измененных клеток, тогда как за тот же период после контакта с Ce6 преобладал их некроз. Терапевтическая эффективность фотосенсибилизатора показана на модели *in vivo* при инокуляции животных опухолью Эрлиха и продемонстрирована высокую выживаемость мышей, получавших CuChlNa и ФДТ.

Природные ФС, выделенные из растений и других биологических источников, можно рассматривать как зеленый подход к ФДТ рака. Низкая системная цитотоксичность по отношению к нормальным клеткам и избирательное действие против злокачественных клеток – одно из основных преимуществ природных ФС. ФДТ в сочетании с природными соединениями борется со злокачественными клетками с помощью трех основных компонентов; ФС (полученные из растений), свет и кислород. Все эти компоненты способствуют фотохимическим реакциям, которые приводят к продукции АФК в злокачественных клетках и, как следствие, к гибели клеток за счет индукции апоптоза и/или некроза. В настоящее время ФДТ широко используется для лечения рака кожи, и недавние исследования показали преимущество подобных терапевтических стратегий, которые могут помочь устранить различные типы рака.

Список использованной литературы

1. Багров И.В., Дадеко А.В., Киселев В.М. и др. Сравнительные исследования фотофизических свойств димегина, фотодитазина и радахлорина // Оптика и спектроскопия. 2019. Т. 126, №. 2. С. 162-169
2. Вишневский А.С. Эпидемиологический переход и его интерпретации // Демографическое обозрение. 2020. Т.7, №3. С. 6-50
3. Костина Т.А., Ноакк Н.В., Ларин С.Н. и др. Цифровизация в здравоохранении на примере выбора лечения для онкобольных // Modern Economy Success. 2020. №. 2. С. 151-159.

4. Поняев А.И., Глухова Я.С., Черных Я.С. Фотосенсибилизаторы для фотодинамической терапии (обзор) // Изв. Санкт-Пет. гос. тех. института. 2017. – №. 41. – С. 71-78.
5. Huggett M.T., Jermyn M., Gillams A. et al. Phase I/II study of verteporfin photodynamic therapy in locally advanced pancreatic cancer // Br. J. Canc. 2014. 110(7). 1698e1704.
6. Lapouge K., Naeveke A., Gall A. et al. Conformation of bacteriochlorophyll molecules in photosynthetic proteins from purple bacteria // Biochemistry. 2014. 38(34). 11115e11121
7. Plekhova N., Shevchenko O., Korshunova O. et al. Development of novel tetrapyrrole structure photosensitizers for cancer photodynamic therapy // Bioengineering. 2022. Т. 9. № 2.
8. Saavedra R., Rocha L.B., Dabrowski J.M., Arnaut L.G. Modulation of biodistribution, pharmacokinetics, and photosensitivity with the delivery vehicle of a bacteriochlorin photosensitizer for photodynamic therapy // Chem-MedChem. 9(2). 2014. 390e398.
9. Xu M., Kinoshita Y., Matsubara S., Tamiaki H. Synthesis of chlorophyll-c derivatives by modifying natural chlorophyll-a // Photosynth. Res. 3(127). 2016. P. 335–345.
10. Zhang X.H., Zhang L.J., Sun J.J., Yan Y.J., Zhang L.X., Chen N., Chen Z.L. Photodynamic efficiency of a chlorophyll-a derivative in vitro and in vivo. // Biomedicine & pharmacotherapy. 2016. 81, P. 265–272.

Сведения об авторе статьи:

Плехова Наталья Геннадьевна - д.б.н., профессор, заведующая ЦНИЛ ФГБОУ ВО Тихоокеанский государственный медицинский университет Минздрава России, 690002, Россия, г. Владивосток, просп. Острякова, 2
E-mail: pl_nat@hotmail.com