

ОБЗОР МЕХАНИЗМОВ СЕЛЕКТИВНОГО НАКОПЛЕНИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ РАЗЛИЧНОЙ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ В ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ

Е.А. Мачинская, В.И. Иванова-Радкевич
ФГУП «ГНЦ «НИОПИК»», г. Москва

Резюме

В статье представлен обзор существующих теорий, объясняющих механизмы селективного накопления фотосенсибилизаторов в опухолевых тканях. Рассмотрены варианты, связанные как с направленной доставкой соединений различной химической структуры в опухоль, так и с низкой скоростью элиминации фотосенсибилизаторов из опухоли. Подробно описаны механизмы захвата опухолевыми клетками фотосенсибилизатора, связанного с липопротеинами, благодаря более высокой, по сравнению с нормальными клетками, экспрессии рецепторов липопротеинов низкой плотности; механизмы накопления фотосенсибилизатора в опухолевой ткани за счет поглощения находящимися там макрофагами; механизмы связывания фотосенсибилизатора порфириновой структуры коллагеновыми нитями, продукция которых увеличена в опухолевых клетках и ряд других механизмов. Показаны перспективы практического применения знания механизмов селективного накопления с целью искусственного увеличения селективности накопления фотосенсибилизатора в опухоли путем направленной доставки препарата в патологические ткани. Проведен анализ существующих в мире направлений по поиску транспортных систем фотосенсибилизаторов.

Ключевые слова: фотосенсибилизаторы, селективное накопление, химическая структура.

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – относительно новое направление противоопухолевой терапии. Метод ФДТ основан на избирательном накоплении в опухолевой ткани фотосенсибилизатора, способного при локальном воздействии света определенной длины волны, соответствующей максимуму его поглощения, генерировать цитотоксические агенты, вызывающие повреждение структурных элементов опухолевой ткани.

К настоящему времени по ФДТ накоплен обширный экспериментальный и клинический материал, который нашел свое отражение во многих работах. Метод ФДТ успешно применяется в клинической онкологии как с радикальной целью при ранних стадиях рака, поверхностных новообразованиях, предраковых патологических состояниях, так и с паллиативной целью. В большинстве зарубежных стран и в России к клиническому применению разрешены фотосенсибилизаторы первого поколения на основе гематопорфирина – фотофрин и его аналоги. Однако указанные порфириновые препараты как фотосенсибилизаторы для ФДТ имеют ряд недостатков. Вследствие слабого оптического поглощения в красной части спектра (наиболее длинноволновая полоса поглощения порфиринов лежит в области 620–640 нм) они вызывают в опухолях ограниченные по глубине фотоиндуцированные некрозы. Кроме того, они обладают неоднородным химическим составом, характеризуются низкой селективностью накопления в опухоли, являются причиной выраженной кожной токсичности [1, 2].

Многолетние и многочисленные исследования в области ФДТ новообразований позволили сформулировать основные требования, предъявляемые с оптимальному фотосенсибилизатору, среди которых одно из главных – высокая селективность накопления фотосенсибилизатора в опухоли, что обеспечивает его высокую фотодинамическую активность, сохранность окружающих тканей при проведении облучения и низкую кожную фототоксичность [1, 3].

За последние годы в нашей стране и за рубежом разработан ряд соединений – фотосенсибилизаторов для ФДТ второго поколения (фотосенс, темпорфин, пурлитин, фоскан, фотодитазин, радахлолин, фотохлолин, фотолон и др.), – которые обеспечивают большую глубину поражения опухолевой ткани за счет смещения максимумов поглощения в более длинноволновую область спектра (650–670 нм) и обладают более выраженной селективностью накопления в опухолевой ткани по сравнению с препаратами первого поколения [1–4].

Избирательность накопления фотосенсибилизаторов в опухолевой ткани лежит в основе метода ФДТ [3, 5]. Несмотря на многочисленные исследования тропности фотосенсибилизаторов к опухолевым клеткам, этому факту до сих пор не существует однозначного объяснения [5].

Для фотосенсибилизаторов разной химической природы существуют разные теории, объясняющие

избирательность их накопления в опухоли. Наибольшее количество исследований механизмов селективности фотосенсибилизаторов касается производного гематопорфирина.

Согласно основной принятой в настоящее время теории, при системном введении в кровоток производное гематопорфирина связывается с сывороточными белками, включая липопротеины, преимущественно низкой плотности, глобулины и альбумины. Наиболее продолжительное связывание (более 48 ч) производного гематопорфирина наблюдается с липопротеинами. Предполагают, что опухолевые клетки захватывают производное гематопорфина, связанное с липопротеинами, благодаря более высокой по сравнению с нормальными клетками экспрессии рецепторов липопротеинов низкой плотности [5–7]. Причиной увеличения количества рецепторов липопротеинов низкой плотности может быть повышенная потребность в холестерине у часто делящихся клеток опухоли [8]. Таким образом, связанные с липопротеинами порфирины активнее захватываются и дольше удерживаются опухолевыми клетками, чем порфирины в водных растворах. Кроме того, для порфиринов, связанных с липопротеинами, и их свободной формы различаются мишени фотодинамического воздействия: цитоплазматическая мембрана, как более доступная, поражается водным раствором порфирина, а порфирины связанные с липопротеинами, вызывают более глубокие внутриклеточные поражения – митохондрий, лизосом и цитоплазмы [5–7].

Позже многими авторами было показано, что такой механизм транспорта фотосенсибилизаторов характерен не только для производного гематопорфирина, но и для других фотосенсибилизаторов. Так, при внутривенном введении все липофильные фотосенсибилизаторы связываются с белками крови, и только небольшая их часть оказывается в свободном состоянии. Молекулы фотосенсибилизаторов связываются с белками за счет электростатических, ван-дер-ваальсовых, гидрофобных и водородных взаимодействий. Доказано, что фталоцианин цинка и этиопурпурин олова могут транспортироваться липопротеинами высокой плотности. Некоторые хлорины и тетрафенилпорфины (N-аспартилхлорин e_6 , мезо-тетра-гидрокси-фенил-хлорин, тетрафенилпорфины) переносятся в основном альбумином, а хлорин e_6 и сульфированный фталоцианин алюминия примерно в равной степени связываются с альбумином и липопротеинами высокой плотности; значительная роль в переносе производного бензопорфирина суль-

фированных фталоцианинов алюминия и цинка также отводится липопротеинам низкой плотности. Следует отметить, что липопротеины не фагоцитируются клетками крови и длительно циркулируют в кровеносном русле [9–23].

Из других механизмов селективного накопления фотосенсибилизаторов в опухоли отмечают, что в опухолевых клетках повышена продукция коллагена, связывающего порфирины, что также способствует селективному накоплению фотосенсибилизаторов с порфириновой структурой в опухолевой ткани [24].

На избирательность накопления фотосенсибилизаторов в опухоли значительное влияние оказывают низкие значения pH опухоли по сравнению с нормальными тканями за счет избыточного производства молочной кислоты при активном гликолизе в опухолевых клетках. В кислой среде анионные фотосенсибилизаторы лучше растворяются в водных растворах и вследствие этого лучше накапливаются в клетках [5, 25].

Согласно еще одной теории, повышенное содержание фотосенсибилизаторов в опухолевой ткани связано с увеличением в ней количества макрофагов. Макрофаги в большей степени, чем сами опухолевые клетки, накапливают фотосенсибилизаторы за счет поглощения их агрегированных комплексов путем фагоцитоза. За рубежом проведено сравнительное изучение накопления 5-АЛК-индуцированного протопорфирина IX в макрофагах и опухолевых клетках. Отмечено, что накопление в макрофагах было значительно выше, чем в опухолевых клетках [26].

По еще одной версии, фотосенсибилизаторы с одинаковой скоростью накапливаются в опухолевой и неизменной тканях, однако в опухолевой ткани они задерживаются на более длительное время. Объясняют это тем, что молекулы фотосенсибилизатора, связанные с белками или агрегированные между собой, из-за своего размера могут элиминировать из опухолевой ткани только с оттоком лимфы, а в опухолях лимфатическая система развита слабо [5, 27, 28]. Так, в исследованиях показано, что для эфира дигематопорфирина (активного компонента производного гематопорфирина) характерна высокая агрегация в водных растворах, даже при наличии альбуминов в концентрации, подобной той, которая имеется в сыворотке крови [29].

Селективность накопления фотосенсибилизатора в опухоли можно искусственно увеличить направленной доставкой препарата в опухолевые клетки. В настоящее время в мировой литературе

развивается несколько направлений по поиску транспортных систем фотосенсибилизаторов, в частности:

1. Конъюгация фотосенсибилизатора с олигонуклеотидами, белками и другими биоструктурами или их фрагментами. В этом случае фотосенсибилизатор поступает в клетку в результате рецептор-опосредованного эндоцитоза конъюгата [8, 28, 30]. Примером подобной транспортной системы является конъюгат хлорина е₆ с инсулином и молекулой бычьего сывороточного альбумина, для которого в экспериментах на клетках гепатомы человека было показано увеличение селективности накопления в опухоли и фотодинамической активности [8, 28].

2. Разновидностью указанной транспортной системы является конъюгация фотосенсибилизатора с моноклональными антителами, специфичными к антигенам на поверхности опухолевых клеток или стенок сосудов опухоли. Моноклональные антитела – антитела, вырабатываемые иммунными клетками, принадлежащими к одному клеточному клону, то есть произошедшими из одной плазматической клетки-предшественницы. Фотосенсибилизаторы комбинируют с антителом, обеспечивая возможность доставить его непосредственно в опухолевую ткань. Существует два варианта подобной транспортной системы: фотосенсибилизатор может напрямую присоединяться к антителу или может быть сформирован конъюгат на основе так называемой модульной транспортной системы, содержащей множитель с присоединенными молекулами фотосенсибилизатора, который уже конъюгирован к антителу. Прямое присоединение фотосенсибилизатора к антителу проще реализуется с точки зрения синтеза, однако, в этом случае велика вероятность изменения свойств антител. Такое прямое связывание может понизить активность участка, который является мишенью, или даже привести к потере нативной структуры белка, что влечет за собой потерю его биологической активности. В то же время, создание модульной транспортной системы часто является весьма трудоемким за счет ее значительно более сложной структуры. Тем не менее, в этом случае полностью сохраняются функции антитела и возможность модулировать фотоактивность, за счет варьирования количества и видов присоединяемых красителей. Оба подхода в настоящее время активно исследуются [24, 27, 28, 30]. В исследованиях на животных показано, что конъюгаты хлорина е₆ с моноклональными антителами ОС125 накапливаются в клетках мышинного рака яичников в два-три раза эффективнее, чем свободный хлорин е₆ [8].

3. Селективность накопления фотосенсибилизатора в опухоли можно увеличить за счет его доставки в опухолевую ткань с помощью наночастиц, в частности за счет облегчения внутриклеточной доставки полученных комплексов в фаголизосомы опухолевых клеток путем фагоцитоза [8, 19].

4. Используется также доставка фотосенсибилизатора в опухолевую ткань с помощью липопротеинов низкой плотности. Липопротеины низкой плотности, как транспортная система, обладают рядом достоинств. Будучи естественными компонентами крови, они не удаляются из кровотока клетками ретикуло-эндотелиальной системы, они неиммунногенны, их малый размер облегчает прохождение через стенки сосудов, а неполярная сердцевина обеспечивает возможность переноса липофильных фотосенсибилизаторов [8, 19].

5. Специфичность фотодинамического действия можно увеличить путем включения фотосенсибилизатора в липосомы различного строения. Фотосенсибилизатор может быть заключен либо в водной фазе липосом, либо в их липидных бислоях, в зависимости от его гидрофильности. На практике используются различные механизмы адресной доставки фотосенсибилизатора с использованием липосом. Например, мембрана липосомы может быть стабилизирована контактом с антителами. Когда антитела агрегируют при прикреплении к опухолевым клеткам, их способность стабилизировать мембрану падает и липосомы разрушаются, высвобождая свое содержимое. При создании рН-чувствительных липосом мембрана стабилизируется добавкой компонентов, которые при нейтральном рН заряжены, а при низких значениях рН (в опухолевой ткани) теряют заряд, дестабилизируя липосому [8, 31, 32]. Наблюдаемая повышенная активность многих фотосенсибилизаторов в липосомах может быть частично объяснена тем, что в полярной структуре липосом происходит полная мономеризация агрегатов [32].

6. Для доставки в опухоль гидрофобных фотосенсибилизаторов используется солюбилизация в растворах неионогенных поверхностно-активных веществ, в том числе Кремофора EL и Проксанола 268. Это направление является наиболее перспективным с точки зрения доступности эмульгатора (в отличие, например, от дорогостоящих липосомальных композиций) и относительной простоты приготовления водных эмульсий липофильных фотосенсибилизаторов [27].

Следует отметить, что кроме накопления фотосенсибилизатора непосредственно в опухолевых тканях и прямого их разрушения, деструкция

опухоль при ФДТ может быть обусловлена и другим механизмом, связанным с опосредованным повреждением опухоли в результате воздействия на микрососуды самой опухоли и в ее ложе. В этом случае фотодинамически активные соединения накапливаются преимущественно в стенке (в эндотелиальных клетках) сосудов опухоли, быстро растущих по сравнению с сосудами неизмененных тканей. Фотоиндуцированное повреждение эндотелия вызывает активацию факторов свертывания крови и вазоактивных интермедиаторов, а повреждение эндотелиального слоя увеличивает агрегацию клеток крови. В результате запускаются процессы тромбообразования и возникающая сосудистая окклюзия нарушает питание опухоли и приво-

дит к ее гипоксии вследствие диваскуляризации [3, 24, 33]. В настоящее время считается, что непрямо́ная клеточная гибель, вызываемая вторичными механизмами, чрезвычайно важна [11, 33].

Таким образом, за счет селективного накопления фотосенсибилизаторов в опухолевой ткани реализуется его фотодинамическая активность, сохранность окружающих тканей при проведении облучения и низкая кожная фототоксичность. Изучение механизмов селективного накопления фотосенсибилизаторов в опухоли и поиск новых транспортных систем, обеспечивающих еще более высокую избирательность попадания фотосенсибилизатора в опухоль, необходимы для дальнейшего развития метода фотодинамической терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лукьянец Е.А. Новые фотосенсибилизаторы для фотодинамической терапии // Российский химический журнал. – 1998. – Т. XLII, №5. – С. 9–16.
2. Juzeniene A. and Moan J. The history of PDT in Norway/ Part one: Identification of basic mechanisms of general PDT // Photodiag. Photodynam. Ther. – 2007. – Vol. 4. – P. 3–11.
3. Castano A.P. et al. Mechanisms in photodynamic therapy: part one – photosensitizers, photochemistry and cellular localization // Photodiag. Photodynam. Ther. – 2004. – Vol. 1. – P. 279–293.
4. Moghissi K. and Dixon K. Photodynamic therapy in the management of malignant pleural mesothelioma: a review // Photodiagnosis and photodynamic therapy. – 2005. – Vol. 2. – P. 135–147.
5. Moan J. and Peng Q. An outline of the history of PDT // Photodynamic Therapy. Comprehensive series in Photochem. Photobiol. Sci. Ed. T. Patrice. The Royal Society of Chemistry, London. – 2003. – P. 3–17.
6. Jori G. and Reddy E. The role of lipoproteins in the delivery of tumor-targeting photosensitizers // Int. J. Biochem. – 1993. – Vol. 25. – P. 1369–75.
7. Allison R.R., Sibata C.H., Downie G.H. and Cuenca R.E. A clinical review of PDT for cutaneous malignancies (review) // Photodiag. Photodynam. Ther. – 2006. – Vol. 3. – P. 214–226.
8. Соболев А.С., Розенкранц А.А., Гилязова Д.Г. Подходы к направленной внутриклеточной доставке фотосенсибилизаторов для увеличения их эффективности и придания клеточной специфичности // Биофизика. – 2004. – Т. 49, вып. 2. – С. 351–379.
9. Figge F.H.J., Weiland G.S., Manganiello O.J. Cancer detection and therapy. Affinity of neoplastic, embryonic, and traumatized tissues for porphyrins and metalloporphyrins // Proc. Soc. Exp. Biol. Med. – 1948. – Vol. 68. – P. 640–641.
10. Detty M.R., Gibson S.L., Wagner S.J. Current clinical and preclinical photosensitizers for use in photodynamic therapy // J. Med. Chem. – 2004. – Vol. 47. – P. 3897–3915.
11. Huang Z., Xu H., Meyers A.D. et al. Photodynamic therapy for treatment of solid tumors – potential and technical challenges // Technol. Cancer Res. Treat. – 2008. – Vol. 7, № 4. – P. 309–320.
12. Jones H.J., Vernon D.I. and Brown S.B. Photodynamic therapy effect of m-THPC (Foscan) in vivo: correlation with pharmacokinetics / Br. J. Cancer. – 2003. – Vol. 89. – P. 398–404.
13. Moan J. and Berg K. The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the photosensitizer pharmacokinetics, biodistribution, tumor localization and models of tumor destruction lifetime of singlet oxygen // Photochem. Photobiol. – 1991. – Vol. 53. – P. 549–530.
14. Kessel D. Adventures in photodynamic therapy: 1976–2008 // J. Porphyrins Phthalocyanines. – 2008. – Vol. 12, № 8. – P. 877–880.
15. Lou P.-J., Jäger H.R., Jones L., Theodosy T., Bown S.G. and Hopper C. Interstitial Nowis D., Makowski M., Stokłosa T. et al. Direct tumor damage mechanisms of photodynamic therapy // Acta Biochimica Polonica. – 2005. – Vol. 52, №2. – P. 339–352.
16. Lukyanets E.A. Phthalocyanines as photosensitizers in the photodynamic therapy of cancer // Journal of porphyrins and phthalocyanines. – 1999. – Vol. 3, IS 6-7. – P. 424–432.
17. Josefsen L.B. and Boyle R.W. Photodynamic therapy and the development of metal-based photosensitizers // Metal-Based Drugs. – 2008. – Vol. 2008. – 24 p.
18. Xu D.Y. Research and development of photodynamic therapy photosensitizers in China // Photodiag. Photodynam. Ther. – 2007. – 4. – P. 13–25.
19. Zheng G., Li H., Zhang M., Lund-Katz S., Chance B, Glickson J.D., Low-density lipoprotein reconstituted by pyropheophorbide cholesteryl oleate as target specific photosensitizer // Bioconj. Chem. – 2002. – 13. – P. 392–396.
20. Pass H. Photodynamic therapy in oncology: mechanisms and clinical use // J. Nat. Cancer. Inst. – 1993. – Vol. 85, № 6. – P. 443–456.
21. Leupold D. and Freyer W. Proposal of modified mechanisms for photodynamic therapy // J. Photochem. and Photobiol. – 1992. – Vol. 12, № 3. – P. 311–313.
22. Zheng H. A Review of progress in clinical photodynamic therapy // Technology in cancer research and treatment. – 2005. – Vol. 4, № 3. – P. 283–293.
23. Olenick N.L., Agarwal M.L., He Jin et al. Metabolic signals activated by photodynamic therapy (PDT) // Photogem. and Photobiol. – 1994. – Vol. 59. – P. 67.
24. Nowis D., Makowski M., Stokłosa T. et al. Direct tumor damage mechanisms of photodynamic therapy // Acta Biochimica Polonica. – 2005. – Vol. 52, № 2. – P. 339–352.
25. Pottier R., Kennedy J.C. / J. Photochem. Photobiol. B: Biol. – 1999. – V. 8. – P. 1–16.
26. Sulbha Sharma, Anjana Jajoo, Alok Dube / 5-Aminolevulinic acid-induced protoporphyrin-IX accumulation and associated phototoxicity in macrophages and oral cancer cell lines //

- Journal of photochemistry and photobiology. – 2007. – 88. – P. 156–162.
27. Solban N., Rizvi I. and Hasan T. Targeted photodynamic therapy // Lasers in surgery and medicine. – 2006. – 38. – P. 522–531.
28. Wiedmann M.W. and Caca K. General Principles of Photodynamic Therapy (PDT) and Gastrointestinal // Current Pharmaceutical Biotechnology. – 2004. – 5. – P. 397–408.
29. Dougherty T.J., Potter W.R., Weishaupt K.R. / Porphyrin localization and treatment of tumors // Alan R. Liss. – 1984. – P. 301–314.
30. Fujita M., Lee B.-S., Khazenon N.M. et al. Brain tumor tandem targeting using a combination of monoclonal antibodies attached to biopoly(β-L-malic acid) // J. Control Release. – 2007. – Vol. 122, №3. – P. 356–363.
31. Hofman J.-W., Carstens M.G., van Zeeland F. et al. Photocytotoxicity of mTHPC (Temoporfin) loaded polymeric micelles mediated by lipase catalyzed degradation // Pharmaceutical Research. – 2008. – Vol. 25, № 9. – P. 2065–2073.
32. Меерович И.Г., Оборотова Н.А. Применение липосом в фотохимиотерапии: 1. липосомы в ФДТ // Российский биотерапевтический журнал. – 2003. – Т. 2, №4. – С. 3–8.
33. Кубасова И.Ю., Вакуловская Е.Г, Ермакова К.В., Смирнова З.С. Флуоресцентная диагностика и фотодинамическая терапия при лечении злокачественных опухолей головного мозга // Российский биотерапевтический журнал. – 2006. – Т. 5, №4. – С. 54–63.

REVIEW OF SELECTIVE ACCUMULATION OF PHOTSENSITIZERS WITH DIFFERENT CHEMICAL STRUCTURE IN TUMOR TISSUE

E.A. Machinskaya, V.I. Ivanova-Radkevich

Research Institute of Organic Intermediates and Dyes, Moscow

The review of available theories explaining mechanisms of photosensitizer selective accumulation in tumor tissue is represented in the article. Variants associated with both targeted delivery of compounds with different chemical structure to tumor and low elimination rate of photosensitizers in the tumor are described. Details of tumor cell up-take of photosensitizer bounded with lipoproteins due to increased expression of low solididity lipoproteins receptors comparing with normal cells; mechanisms of photosensitizer accumulation in tumor tissue due to phagocytosis by macrophages localized in this area; mechanisms of binding of porphyrin-based photosensitizer by collagen fibers, production of which is increased in tumor cells, and other mechanisms are reviewed. Perspectives of practical application of knowledge about mechanisms of selective accumulation for induced increase in selectiveness of photosensitizer accumulation in tumor through targeted delivery of agent to pathological tissues are shown. Analysis of world trends in the search of transport systems for photosensitizers is performed.

Keywords: photosensitizer, selective accumulation, chemical structure.

Контакты: Мачинская Е.А. E-mail: machinskaya@niopik.ru