

¹ Федеральное
государственное
бюджетное
образовательное
учреждение «Первый
Санкт-Петербургский
государственный
медицинский

университет
им. академика
И.П. Павлова» Минздрава РФ
(Санкт-Петербург, Россия)

² Федеральное
государственное
бюджетное
образовательное
учреждение «Северо-
Западный государственный
медицинский университет
им. И.И. Мечникова»
Минздрава РФ
(Санкт-Петербург, Россия)

³ Государственное
бюджетное учреждение
здравоохранения «Санкт-
Петербургский клинический
научно-практический
центр специализированных
видов медицинской помощи
(онкологический)»
(Санкт-Петербург, Россия)

ВЛИЯНИЕ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ФОТОИНДУЦИРОВАННЫЙ ЦИТОЛИЗ ПРИ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

Е.Б. Мирошникова¹, Л.В. Галебская¹, В.А. Дадали², Ю.В. Дадали²,
Б.И. Мирошников³

THE EFFECT OF AUXILIARY DRUGS ON PHOTODYNAMIC CYTOLYSIS IN PHOTODYNAMIC THERAPY

Е.Б. Мирошникова¹

*Ассистент кафедры биологической химии
Первого Санкт-Петербургского
государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова,
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8.*

Л.В. Галебская¹

*Доктор медицинских наук, профессор кафедры биологической химии
Первого Санкт-Петербургского государственного
медицинского университета
им. акад. И.П. Павлова,
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8.*

В.А. Дадали²

*Доктор химических наук, профессор кафедры общей
и биологической химии
им. В.В. Соколовского ГБОУ «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ.
191015, Санкт-Петербург, ул. Кировная, д. 41.*

Ю.В. Дадали²

*Кандидат химических наук, доцент кафедры
профилактической медицины
и охраны здоровья ГБОУ «СЗГМУ им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ.
191015, Санкт-Петербург, ул. Кировная, д. 41.*

Б.И. Мирошников³

*Доктор медицинских наук, профессор,
врач-эксперт ГБУЗ «СПб КНПЦСВМП(о)».
197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, Ленинградская ул., д. 68А, лит. А.*

Е.Б. Miroshnikova¹

*Assistant of the Department of Biological Chemistry of the First St. Petersburg
State Medical University. Academician I.P. Pavlova, St. Petersburg,
197022, Russia, St. Petersburg, st. Leo Tolstoy, d. 6-8.*

L.V. Galebskaya¹

*Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Biological Chemistry
of the First St. Petersburg State Medical University.
Academician I.P. Pavlova, St. Petersburg.*

V.A. Dadali²

*Doctor of Chemical Sciences, Professor of the Department of General and
Biological Chemistry named after V.V.Sokolovsky Biochemistry
of the I.I. Mechnikov Northwestern State Medical University, St. Petersburg,
191015, St. Petersburg, st. Kirovnaaya, 41.*

Y.V. Dadali²

*Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor of the Department
of Preventive Medicine and Health Protection of the I.I. Mechnikov Northwestern
State Medical University, St. Petersburg.*

B.I. Miroshnikov³

*Doctor of Medical Sciences, Professor, expert physician of the St. Petersburg
Clinical Scientific and Practical Center for Specialized Methods
of Treatment (oncological).*

197758, Saint-Petersburg, Pesochny-2, Leningradskaya str. 68a Lit.A.

В эксперименте (на эритроцитах крови здоровых людей) изучено влияние на фотоиндуцированный гемолиз при ФДТ пиридин-содержащих и фенольных соединений (Мексидол, Эмоксипин, Витамин В₆, Парацетамол, Пропофол, Коэнзим Q₁₀) и имидазолсодержащего препарата Дексдор. Установлено, что Мексидол и Эмоксипин проявляли себя не как антиоксиданты, а как мощные агенты усиления гемолитического эффекта; при этом в области малых доз они проявляли мембранозащитный антигемолитический эффект. Поэтому возможность их использования в качестве сопутствующих препаратов при ФДТ является проблематичной и требуются дополнительные клинические исследования этой проблемы. Анестетик Дексдор (дексмететомидин) не оказывал заметного влияния на скорость гемолиза, что позволяет рекомендовать его в качестве приоритетного препарата для медикаментозного сопровождения ФДТ. Седативный препарат Пропофол (2,4-диизопропилфенол) и Парацетамол (п-ацетоаминофенол), как и большинство фенольных соединений, вызывали достоверное ингибирование гемолиза, что делает проблематичным их применение при ФДТ. Коэнзим Q₁₀ (его восстановленная форма – убихинол) проявлял выраженный ингибирующий эффект на процесс гемолиза, однако он может быть рекомендован в качестве эффективного мембранопротекторного препарата для защиты мембран здоровых клеток.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, антиоксидант, прооксидант, фотоиндуцированный гемолиз, радахлорин, синглетный кислород, мексидол.

The effect of pyridine-containing and phenolic compounds (Mexidol, Emoxypine, Vitamin B₆, Paracetamol, Propofol, Coenzyme Q10) and imidazole-containing Dexdor on photoinduced hemolysis in PDT was studied in an experiment (on erythrocytes of healthy people's blood). It was found that Mexidol and Emoxypine showed themselves not as antioxidants, but as powerful agents to enhance the hemolytic effect, while in the area of small doses they showed a membrane-protective antihemolytic effect. Therefore, the possibility of their use as concomitant drugs in PDT is problematic and additional clinical studies are required. The anesthetic Dexdor (dexmedetomidine) did not have a noticeable effect on the rate of hemolysis, which makes it possible to recommend it as a priority drug for drug support of PDT. Sedative Propofol (2,4-diisopropylphenol) and Paracetamol (p-acetaminophenol) as most phenolic compounds caused significant inhibition of hemolysis, which makes their use in PDT problematic. Coenzyme Q10 (its reduced form – ubiquinol) showed a pronounced inhibitory effect on the hemolysis process, however, it can be recommended as an effective membrane-protective drug to protect the membranes of healthy cells.

Key words: photodynamic therapy, antioxidant, prooxidant, photoinduced hemolysis, radachlorin, singlet oxygen, mexidol.

Введение

Фотосенсибилизированное окисление липидов мембран клеток, широко применяемое в фотодинамической терапии (ФДТ) злокачественных опухолей, позволяет посредством фотоактивации накапливающегося в тканях фотосенсибилизатора запускать цепные свободно-радикальные процессы окисления липидов (СРО). Последующий перенос энергии «возбужденного» состояния фотосенсибилизатора на растворенный в тканях молекулярный кислород порождает его активные формы, в т.ч. и синглетный кислород. Активные формы кислорода (АФК) инициируют каскад цепных процессов СРО биомембран [1–3].

Обычно ФДТ не предусматривает целенаправленного назначения больным тех или иных вспомогательных препаратов, способных усиливать или ослаблять ингибирующий эффект фотоиндуцированного цитолиза раковых клеток и одновременно предупреждать возможное воздействие на здоровые клетки. Вместе с тем в клинической практике нередко приходится сталкиваться с ситуацией, когда ФДТ выполняется на фоне приема больными различных препаратов по поводу сопутствующих заболеваний. Если в таких сопутствующих препаратах содержатся антирадикальные и восстанавливающие соединения, они могут приводить к ингибированию фотоиндуцированного цитолиза раковых клеток, тогда как вещества препаратов, обладающих прооксидантным

эффектом, – к усилению и распространению цитолитического эффекта на гибель не только раковых, но и здоровых клеток, окружающих опухоль. Было также установлено, что при нестандартных ситуациях может наблюдаться изменение свойств препаратов [4–8].

Такое направление в ФДТ изучено недостаточно. Поэтому поиск веществ, усиливающих либо ингибирующих фотоиндуцированный цитолиз, представляется актуальным и важным, поскольку он открывает возможности влиять на этот процесс и способствовать повышению эффективности самой фотодинамической терапии.

Цель работы

Изучить на модели фотоиндуцированного гемолиза влияние на процесс ФДТ препаратов пиридин-содержащих и фенольных соединений, заведомо обладающих высокой антирадикальной активностью.

Материал и методы

Для выполнения работы использовались эритроциты человека. Донорами являлись «практически здоровые» лица в возрасте от 18 до 64 лет.

В качестве фотосенсибилизатора применялся радахлорин (ООО «Радафарма» СПб, 0,35% водный ампульный раствор для внутривенного введения, основной компонент – хлорин e₆).

Облучение эритроцитов производилось гелий-неоновым лазером ШАТЛ-1 («ЛОМО», СПб, Россия) с длиной волны 653 нм.

Для регистрации фотоиндуцированного цитолиза использовались собственное устройство [9] и спектрофотометр СФ-2000 (СПб, ЛОМО).

Метод исследования – спектрофотометрический с регистрацией оптических плотностей при 750 нм в кинетическом режиме и дальнейшей оценкой периода T_{50} – времени 50%-го гемолиза.

Тестируемые препараты: фенильные производные пиридина, – 6-метил-2-этил-3-гидроксипиридина сукцинат (Мексидол), 6-метил-2-этил-3-гидроксипиридина гидрохлорид (Эмоксипин), пиридоксина гидрохлорид (витамин В₆); фенольные препараты – п-ацетоаминофенол (Парацетамол), 2,4-дизопропилфенол (Пропрофол) и имидазолсодержащий дексмететомидина гидрохлорид (Дексдор), а также фенольная восстановленная форма коэнзима Q₁₀ (убихинол) – 2-метил-5,6-диметокси-1,4-дифенола с гидрофобной цепью из 10 изопреновых фрагментов в 6-м положении. Все они широко применяются в клинической практике и потенциально способны оказывать воздействие на фотодинамический гемолиз. При этом акцент сделан на препарат Мексидол, известный как выраженный антиоксидант. Все остальные препараты использовались в качестве сравнения и доказательной базы.

Подготовка инкубационной смеси для исследования фотоиндуцированного гемолиза. Эритроциты получали из свежей цитратной крови путем центрифугирования ее при 1500 об/мин. в течение 10 мин с последующим трехкратным отмыванием физиологическим раствором, после чего готовилась стандартная взвесь клеток в 5 мМ вероналово-мединаловом буфере (рН 7,4). Далее в экранированной кювете с длиной оптического слоя 0,5 см готовилась инкубационная смесь (проба), содержащая 0,1 мл стандартной взвеси эритроцитов, 0,5 мл вероналово-мединалового буферного раствора (рН 7,4), 0,1 мл фотосенсибилизатора радахлорина (0,35% водный раствор) и 0,1 мл исследуемого вещества (препарата). В образцах контроля вместо 0,1 мл раствора исследуемого препарата добавлялся 0,1 мл физиологического

раствора. Конечная концентрация радахлорина в инкубационной смеси составляла 6,25 мкг/мл. Полученную пробу общим объемом 0,8 мл термостатировали в кюветном отсеке устройства для измерения фотоиндуцированного цитолиза в течение трех минут при 37°C и постоянном перемешивании [1]. Затем инкубационную смесь облучали в течение 1,25 минуты монохроматическим излучением красного светодиода гелий-неонового лазера ШАТЛ-1 с длиной волны 653 нм. Выходная мощность излучения составляла 12 мВт, доза облучения – 1,15 Дж/см².

Регистрация тестируемых препаратов на фотоиндуцированный гемолиз производилась спектрофотометрическим методом на аппарате СФ-2000 с регистрацией оптических плотностей при 750 нм в кинетическом режиме и дальнейшей оценкой периода T_{50} – времени 50%-го гемолиза. На основании полученных графиков зависимостей кинетических кривых для разных значений концентраций тестируемых веществ, построенных с помощью программного обеспечения Statistica 6.0, строили результирующие графики зависимостей величины T_{50} (или $T_{1/2}$) и T_{Total} от концентрации тестируемых соединений.

Статистическую обработку всех результатов измерений и данных обработки графиков осуществляли с помощью t-критерия Стьюдента для нормального распределения результатов с индексом значимости $p \leq 0,05$.

Результаты

Мексидол в отсутствие фотосенсибилизатора не приводил к усилению гемолиза ни в темноте, ни под воздействием облучения. В то же время в присутствии радахлорина во всех исследованных терапевтических концентрациях (0,24 мкг/мл; 0,98 мкг/мл; 3,9 мкг/мл; 15,6 мкг/мл, соответствующих молярным значениям 1,7 мкМ; 7,1 мкМ; 28,5 мкМ; 114 мкМ) при дозе облучения 1,15 Дж/см², наблюдалось уменьшение времени 50%-го гемолиза, что явно указывало на усиление гемолитического действия мексидола (табл. 1).

Отметим, что при более высоких дозах облучения (таких как 1,60 Дж/см² и 1,83 Дж/см²), и максимальной из терапевтических концентраций мексидола 3,9 мкг/мл (28,5 мкМ) гемолиз происходил настолько быстрее,

Таблица 1.

Значения величины T_{50} (в % к контролю) фотоиндуцированного гемолиза при различных концентрациях мексидола (n = 9)

Значения T_{50} , %	Концентрация мексидола			
	0,24 мкг/мл (0,0017 мМ)	0,98 мкг/мл (0,0071 мМ)	3,9 мкг/мл (0,0285 мМ)	15,6 мкг/мл (0,114 мМ)
$(T_{50} \pm \sigma)$, %	63±26	36±21*	22±14**	60±20
Достоверность отличий по отношению к контролю	$p = 0,004$	$p = 0,001$	$p < 0,0001$	$p = 0,0009$

Примечание: * $p < 0,05$ по отношению к концентрации 0,24 мкг/мл;

** $p < 0,05$ по отношению к концентрации 0,98 мкг/мл.

чем в контроле, что значения величины T_{50} , составлявшее менее 1 секунды, было практически невозможно зарегистрировать численно (табл. 2).

Сильный гемолитический эффект мексидола был также подтвержден при более широком диапазоне исследуемых концентраций от $2,5 \cdot 10^{-7}$ до $2,5 \cdot 10^{-3}$ моль/л, отличающихся на 4 порядка (т.е. в 10 000 раз). Так, на рис. 1 гемолитический эффект соответствует области концентраций, где значения периода T_{50} гемолиза меньше значения соответствующей величины $T_{50Control}$ в контрольных опытах (область, где точки лежат ниже контроля).

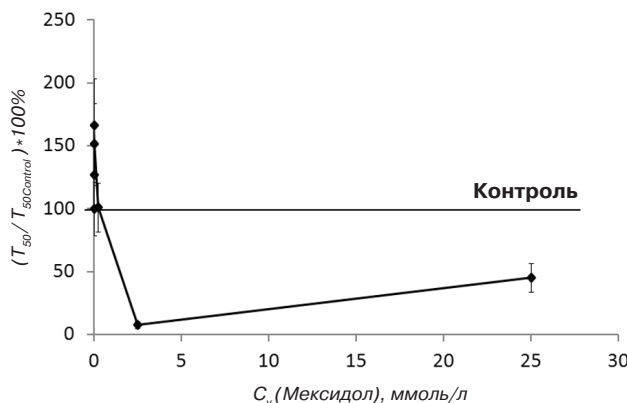


Рис. 1. Зависимость величины T_{50} гемолиза от концентрации мексидола в интервале от $2,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л до $2,5 \cdot 10^{-2}$ моль/л

Такой же сильный гемолитический эффект практически во всех областях (за исключением малых концентраций) проявлял эмоксипин, химическая структура которого близка к мексидолу и содержит такую же активную гидроксильную группу в пиридиновом кольце (рис. 2).

Вместе с тем было обнаружено, что оба препарата (мексидол и эмоксипин) в узкой области малых концентраций – от $2,5 \cdot 10^{-7}$ моль/л до $2,5 \cdot 10^{-4}$ моль/л и от $7,2 \cdot 10^{-7}$ моль/л до $2,96 \cdot 10^{-5}$ моль/л соответственно проявляли значимый антигемолитический и мембранопротекторный эффект (рис. 3).

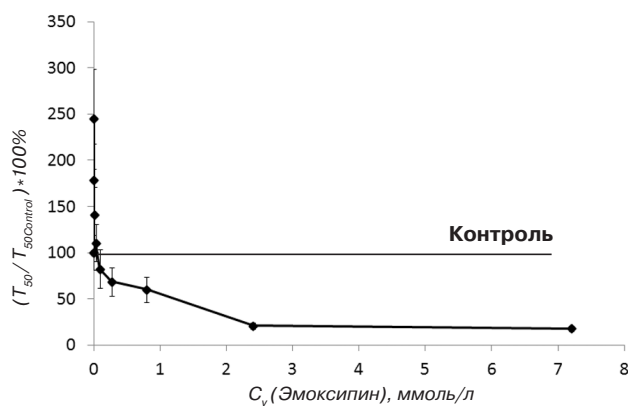


Рис. 2. Зависимость величины T_{50} гемолиза от концентрации эмоксипина в интервале от $7,2 \cdot 10^{-7}$ моль/л до $7,2 \cdot 10^{-3}$ моль/л

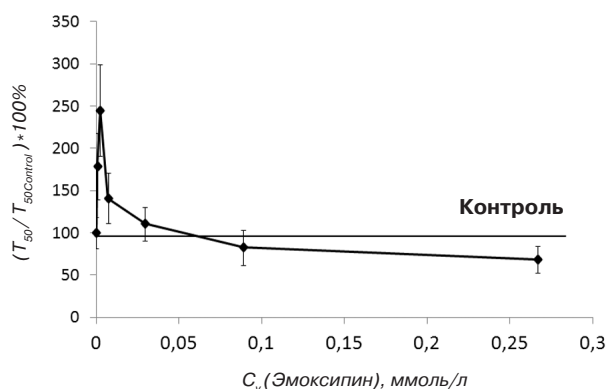


Рис. 3. Зависимости величины T_{50} гемолиза от концентрации эмоксипина в интервале от $7,2 \cdot 10^{-7}$ моль/л до $2,67 \cdot 10^{-4}$ моль/л

При этом ингибирование гемолиза и наличие мембранозащитного эффекта наблюдалось в ограниченной области малых концентраций, где точки лежат выше контроля. Причем для обоих соединений (рис. 2 и рис. 3) кривые гемолиза имели ярко выраженный экстремальный характер: в указанных областях малых концентраций достигался максимум ингибирования процесса гемолиза, т.е. максимум мембранопротекторного эффекта.

Таблица 2.

Значения величины T_{50} (в секундах) фотоиндуцированного гемолиза в присутствии различных концентраций мексидола (n – 9)

№	Контроль	Концентрация мексидола			
		0,24 мкг/мл (0,0017 мМ)	0,98 мкг/мл (0,0071 мМ)	3,9 мкг/мл (0,0285 мМ)	15,6 мкг/мл (0,114 мМ)
1	627***	620	295	менее 1	201
2	620***	530	115	менее 1	130
3	425****	95	менее 1	менее 1	100
4	580***	415	135	менее 1	120
5	860***	715	135	менее 1	45
6	605**	430	410	менее 1	410
7	560*	100	315	42	215
8	775*	615	210	136	535
9	540*	510	430	270	600

Примечание: доза облучения составляла: * – 1,15 Дж/см²; ** – 1,38 Дж/см²; *** – 1,60 Дж/см²; **** – 1,83 Дж/см².

Прежде всего, чтобы установить механизм усиления гемолитического действия, были проведены исследования по изучению влияния на гемолиз основного действующего вещества мексидола и эмоксипина – пиридинового кольца. В основу исследований были положены химическое соединение пиридина, содержащее пиридиновое кольцо, и фенольные препараты парацетамол и убихинол, не содержащие пиридинового кольца.

Было установлено, что во всей изучаемой области концентраций пиридина (от $1,0 \cdot 10^{-6}$ моль/л до $1,0 \cdot 10^{-1}$ моль/л) наблюдался гемолитический эффект. Он имел тенденцию к усилению как в области малых ($1,0 \cdot 10^{-6}$ моль/л до $1,0 \cdot 10^{-5}$ моль/л), так и больших (от $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л до $1,0 \cdot 10^{-1}$ моль/л) концентраций (табл. 3 и рис. 4).

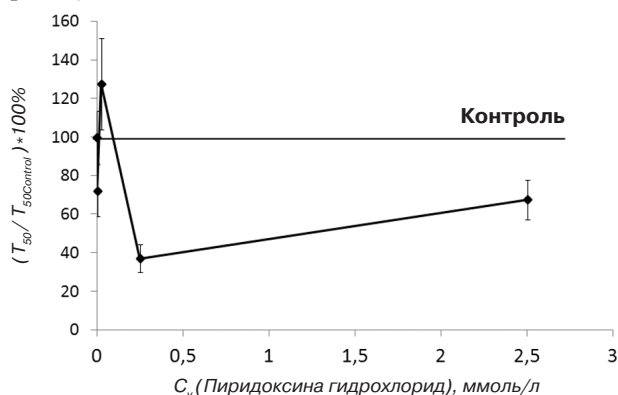


Рис. 4. Зависимость величины T_{50} гемолиза от концентрации витамина B_6 в интервале от $2,5 \cdot 10^{-6}$ моль/л до $2,5 \cdot 10^{-3}$ моль/л

В случае же с таким фенольным соединением, как парацетамол, не содержащим в своей молекулярной структуре пиридинового кольца, результаты свидетельствовали об усилении мембранозащитного эффекта (рис. 5).

Следовательно, пиридиновое кольцо, которое входит в состав всех пиридиносодержащих молекул,

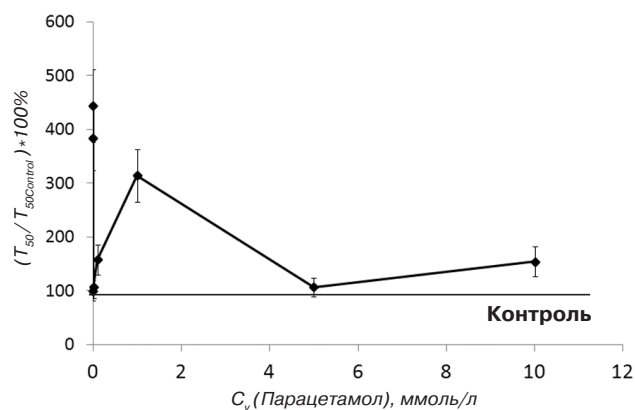


Рис. 5. Мембранопротекторный эффект парацетамола в пробах во всей области концентраций от $1,0 \cdot 10^{-7}$ моль/л до $1,0 \cdot 10^{-2}$ моль/л

само по себе предрасполагает к гемолитическому эффекту, на который может накладываться и антирадикальный эффект гидроксильной ОН-группы пиридинового кольца.

Далее, было изучено влияние на фотоиндуцированный гемолиз анестетика дексмететомидина гидрохлорид (Дексдор) и анальгетика 2,4-диизопропилфенола (Пропофол).

Дексмететомидина гидрохлорид, несмотря на наличие в нем молекулярной структуры систем двойных сопряженных связей, не оказывал влияния на скорость гемолиза даже в повышенных концентрациях (табл. 4).

Пропофол (2,4-диизопропилфенол) во всех концентрациях оказывал достоверное увеличение значений периода T_{50} (табл. 5).

Для подтверждения гипотезы, что соединения фенольной природы усиливают мембранозащитный эффект, изучено влияние на гемолиз эритроцитов убихинола – восстановленной формы коэнзима Q_{10} , т.е. соединения, содержащего в своей молекулярной структуре две гидроксильные ОН-группы в фенильном кольце при отсутствии пиридинового кольца.

Таблица 3.

Значения величины T_{50} (в минутах) и относительные значения $\Delta T_{50} / T_{50Contr}$ (в %) при различных концентрациях пиридина

Концентрация пиридина C_v , ммоль/л	Значения* T_{50} и $\Delta T_{50} / T_{50Contr}$	
	T_{50} , мин.	$\Delta T_{50} / T_{50Contr}$, %
0 (контроль)	$59,3 \pm 5,0$	$100,0 \pm 11,8$
0,001	$19,3 \pm 2,9$	$32,5 \pm 5,6$
0,01	$23,5 \pm 3,8$	$39,6 \pm 7,2$
0,1	$36,4 \pm 4,8$	$61,4 \pm 9,6$
1	$40,7 \pm 8,4$	$68,6 \pm 15,2$
10	$38,8 \pm 5,9$	$65,3 \pm 11,3$
100	$5,4 \pm 2,7$	$9,1 \pm 4,6$

Примечание: * Для каждого значения концентрации проводили 3 измерения ($n = 9$). Значения погрешностей (неопределенностей) величин получены для $n = 9$ при индексе значимости $p < 0,05$.

Таблица 4.

Значения величины T_{50} (в % к контролю) фотоиндуцированного гемолиза для различных концентраций дексмететомидина (n = 6)

Значения T_{50} ($T_{50} \pm \sigma$), % к контролю	Концентрация дексмететомидина, нг/мл			
	312	78	19	5
	100 ± 7	107 ± 9	116 ± 9	109 ± 6
Достоверность отличий от контроля p				
P	0,46	0,92	0,75	0,60

Примечание: здесь в качестве фотосенсибилизатора выступил радахлорин (с концентрацией хлорина е 6,25 мкг/мл), а источника монохроматического света – красный светодиод (653 нм). Подобранный доза облучения – 1,15 Дж/см². Расчет достоверности различий производился по абсолютным значениям T_{50}

Таблица 5.

Значения величины T_{50} (в % к контролю) фотоиндуцированного гемолиза для различных концентраций 2,4-диизопропилфенола (n = 6)

Значения T_{50} ($T_{50} \pm \sigma$), % к контролю	Концентрация пропосола, мкг/мл			
	5,0	2,5	1,25	0,665
	163 ± 38	141 ± 22	139 ± 26	128 ± 28
Достоверность отличий от контроля p				
P	0,0215*	0,0045	0,0042	0,0329

Примечание: * n = 5. Здесь в качестве фотосенсибилизатора выступил радахлорин (с концентрацией хлорина е 6,25 мкг/мл), а источника монохроматического света – красный светодиод (653 нм). Подобранный доза облучения – 1,15 Дж/см². Расчет достоверности различий производился по абсолютным значениям T_{50}

Установлено, что во всем диапазоне концентраций убихинола от 0 до $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л наблюдался значительный интегральный возрастающий ингибирующий эффект «свободного» убихинола H_2Q_{10} на процесс гемолиза (рис. 6).

В широком интервале концентраций убихинола от $1,45 \cdot 10^{-5}$ моль/л до $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л отмечалось существенное увеличение величины периода T_{50} 50%-го гемолиза по сравнению с контрольным опытом (~300% от контроля), что указывает на возрастание мембранопротекторного эффекта, связанного с прямым антирадикальным действием восстановленной формы коэнзима Q_{10} – убихинола.

Обсуждение

Проведенные исследования показали, что мексидол, потенциально обладающий выраженными антирадикальными и восстанавливающими свойствами, в условиях фотоиндуцированного цитолиза проявляет себя не как антиоксидант, а, напротив, как агент усиления гемолиза. Можно полагать, что такое усиление гемолитического эффекта мексидола при его терапевтических концентрациях обусловлено преимущественно механизмом, включающим подавление им компонентов антиоксидантной системы эритроцитов после предварительного химического превращения антиоксиданта в прооксидант, что согласуется с литературными данными [3–5].

При более высоких концентрациях мексидола (от 28,5 мкМ, 114 мкМ и выше) не исключен как радикальный прооксидантный механизм, так и механизм образования молекулярного комплекса между

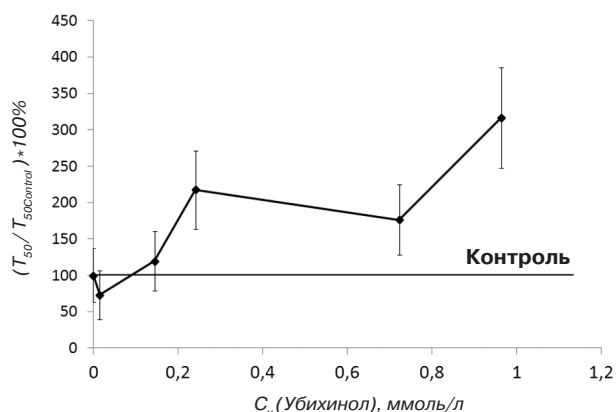


Рис. 6. Зависимость величины $(T_{50} - T_{\text{индукт}})$ гемолиза от концентрации убихинола в интервале от $1,45 \cdot 10^{-5}$ моль/л до $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/л (с учетом индукционного периода от ПАВ Tween-80)

радахлорином и пиридиновой частью молекулы мексидола [6], и как следствие – изменением свойств соединения. В этой области мексидол ускорял фотоиндуцированный гемолиз вследствие образования комплекса с радахлорином и прямого воздействия на молекулы фотосенсибилизатора, инициирования процесса выгорания при передаче его энергии молекулам триплетного кислорода 3O_2 . Усиленная тем самым генерация синглетного кислорода 1O_2 , как известно, является фактором инициации химических реакций свободно-радикального окисления липидов и белков в мембранах эритроцитов, приводящих к их гемолизу [7–9].

Близкий по своему химическому составу к мексидолу препарат эмоксипин, взятый в качестве сравнения,

также проявлял сильный гемолитический эффект практически во всех концентрациях, за исключением малых. Однако в узкой области малых концентраций оба препарата проявляли значимый антигемолитический и мембранопротекторный эффект. Наличие областей концентраций, в которых оба соединения проявляли выраженный мембранозащитный эффект, очевидно, также обусловлены антирадикальными свойствами обоих антиоксидантов, т.е. их способностью восстанавливать пероксирадикалы липидов мембран, образующиеся при облучении, а также, вероятно, способностью поглощать избыточную энергию синглетного кислорода, инактивируя его до обычного триплетного состояния. При этом нельзя исключить механизм влияния молекул активного действующего вещества в препаратах мексидол и эмоксипин на усиление гемолиза и собственно пиридинового кольца. Так, было показано, что усиление гемолиза в присутствии концентраций мексидола выше терапевтических может обуславливаться наблюдаемым эффектом увеличения квантового выхода и генерации синглетного кислорода вследствие образования молекулярного комплекса между пиридиновым кольцом молекулы мексидола и молекулой радахлорина.

Исследования, проведенные с препаратами пиридина, показали, что пиридиновое кольцо, входящее в состав всех пиридин-содержащих молекул действующего вещества препаратов мексидол, эмоксипин и витамина В₆, обуславливает прооксидантный гемолитический эффект всех перечисленных соединений, на который при определенных малых концентрациях может накладываться и антирадикальный эффект гидроксильной ОН-группы, содержащихся в этих соединениях. Это может приводить к всплеску усиления антигемолитического и мембранопротекторного действия в узкой области малых концентраций. Как и можно было ожидать, результаты, полученные в опытах по изучению влияния на гемолиз фенольного соединения парацетамола, содержащего активную гидроксильную ОН-группу, но не содержащего пиридинового кольца, свидетельствуют об отсутствии гемолитического эффекта и усилении мембранопротекторного эффекта соединения во всей области исследуемых концентраций. Это, вероятно, обусловлено наличием активной гидроксильной ОН-группы фенильного кольца парацетамола.

Исходя из этого, мы предположили, что и для других соединений фенольной природы (например, для убихинола, а также для действующего вещества препарата пропофол) отсутствие в их структурах пиридинового кольца и одновременное содержание гидроксильной группы в фенильном кольце может обуславливать отсутствие усиления гемолитического эффекта с одновременным мембранозащитным действием во всей исследуемой области концентраций.

Проведенные исследования с убихинолом, восстановленной формой коэнзима Q₁₀, достаточно

убедительно продемонстрировали мембранопротекторные свойства препарата, что свидетельствует о проблематичности его использования в качестве сопутствующего препарата при ФДТ. В то же время он может рассматриваться как препарат для эффективной защиты здоровых клеток, мембран эритроцитов, а также, возможно, и других клеток крови от фотосенсибилизированного гемолиза [10].

В этой же модельной системе было установлено, что седативный препарат пропофол, основное действующее начало которого также является соединением фенольной природы, во всем диапазоне терапевтических концентраций вызывал достоверное ингибирование гемолиза за счет мембранопротекторного эффекта. Природа этого эффекта, вероятно, также связана со способностью действующего начала пропофола быть эффективной «ловушкой» свободных радикалов, поскольку наличие в структуре его молекулы фенильной гидроксильной группы обуславливает антирадикальную и антиоксидантную направленность [11, 12]. Именно поэтому следует также с осторожностью подходить к использованию и применению при ФДТ и этого соединения фенольной природы.

Влияние на фотодинамический цитолиз препарата дексмететомидин (Дексдор), применяемого в анестезиологической практике, в том числе при фотодинамической терапии, ранее должным образом не изучалось. А наличие имидазольной группы в структуре его молекулы указывает на потенциальную возможность антирадикального и антиоксидантного действия препарата, поскольку очень многие производные имидазолов являются сильными антиоксидантами. Если дексдор применять при ФДТ, это может сказываться на ее эффективности [10, 13]. Тем не менее, в наших исследованиях дексдор не оказывал влияния на скорость фотоиндуцированного гемолиза даже в повышенных концентрациях. Следовательно, отсутствие «вмешательства» в механизм фотодинамического эффекта позволяет рекомендовать дексмететомидин в качестве приоритетного препарата для медикаментозного сопровождения внутрисосудистой ФДТ.

Выводы

1. Целенаправленная модификация состояния оксидантной/антиоксидантной системы в клетках-мишенях фотодинамического цитолиза открывает возможности влиять на этот процесс, что может способствовать повышению эффективности ФДТ.

2. Мексидол и эмоксипин, обладающие выраженными антирадикальными и восстанавливающими свойствами, в условиях фотодинамического гемолиза проявляли себя не как антиоксиданты, а как агенты усиления гемолитического эффекта. Использование этих соединений в качестве вспомогательных при

фотодинамической терапии требует дополнительно клинического изучения.

3. Анестетик дексмететомидин (Дексдор) не оказывает влияния на скорость фотоиндуцированного гемолиза даже в повышенных концентрациях, что позволяет рекомендовать его в качестве приоритетного препарата для медикаментозного сопровождения ФДТ.

4. Различные фенольные гидроксилсодержащие соединения (например, парацетамол, убихинол и се-

дательный препарат пропофол) проявляют выраженный мембранопротекторный эффект, ингибирующий гемолиз, что делает проблематичным их применение при ФДТ.

5. Убихинол, после дополнительных клинических исследований, может быть рекомендован в качестве эффективного мембранопротекторного препарата для целевой защиты мембран различных здоровых клеток при ФДТ.

Список сокращений:

ФДТ – фотодинамическая терапия;

СРО – свободно-радикальное окисление;

АФК – активные формы кислорода;

ПАВ – поверхностно-активное вещество.

мкМ – мкмоль/л (микромоль в литре).

Список литературы

1. *Uzdensky A.B.* The biophysical aspects of photodynamic therapy // *Biophysics (Russian Federation)*. – 2016. – Vol. 61, № 3 – P. 461–469.
2. *Zhou Z., Song J., Nie L., Chen X.* Reactive oxygen species generating systems meeting challenges of photodynamic cancer therapy // *Chemical Society reviews*. – 2016. – Vol. 45, № 23 – P. 6597–6626.
3. *Allison R.R.* Photodynamic therapy: Oncologic horizons // *Futur. Oncol.* – 2014. – Vol. 10, № 1. – P. 123–142.
4. *Галевская Л.В., Соловцова И.Л., Рюмина Е.В., Соловьева М.А.* Цитопротекторное действие реамбирин в системе фотогемолиза // *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова*. – 2009. – Т. XVII, № 4 – С. 45–47.
5. *Артюнян А.В., Дубинина, Зыбина.* Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма. – СПб. – 2000. – С. 251.
6. *Соловцова И.Л., Соловьева М.А., Галевская Л.В.* Кинетический подход в исследовании фотолиза // *Сборник «Актуальные проблемы лазерной медицины»*. – СПб ПСПбГМУ. – 2001. – С. 307–312.
7. *Sorrenti V., Salerno I., Giacomo C.* Imidazole derivatives as antioxidants and selective inhibitors of nNOS // *Nitric Oxide*. – 2006. – V. 14, № 1. – P. 45–50.
8. *Bao Y.P., Williamson G., Tew D., Plumb G.W., Lambert N., Jones J.G., Menon D.K.* Antioxidant effects of propofol in human hepatic microsomes: concentration effects and clinical relevance // *Br. J. Anaesth.* – 2008. – V. 81, № 4. – P. 584–589.
9. *Галевская Л.В., Соловцова И.Л., Михайлова И.Л.* Устройство для регистрации фотоиндуцированного цитолиза. Патент РФ на полезную модель № 114157 от 10 марта 2012 г.

References

1. *Uzdensky A.B.* The biophysical aspects of photodynamic therapy. *Biophysics (Russian Federation)*. 2016; 61(3): 461-469.
2. *Zhou Z., Song J., Nie L., Chen X.* Reactive oxygen species generating systems meeting challenges of photodynamic cancer therapy. *Chemical Society reviews*. 2016; 45(23): 6597-6626.
3. *Allison R.R.* Photodynamic therapy: Oncologic horizons. *Futur. Oncol.* 2014; 10(1): 123-142.
4. [*Galebskaya L.V., Solovtsova I.L., Ryumina E.V., Solovieva M.A.* Cytoprotective effect of reambirin in the photohemolysis system. *Scientific notes of the Pavlov St. Petersburg State Medical University*. 2009; XVII(4): 45-47. (In Russ)]
5. [*Artyunyan A.V., Dubinina, Zybina.* Methods of evaluation of free radical oxidation and the antioxidant system of the body – St. Petersburg. 2000: 251. (In Russ)]
6. [*Solovtsova I.L., Solovieva M.A., Galebskaya L.V.* Kinetic approach in the study of photolysis. Collection “Actual problems of laser medicine” – SPb PSPbSMU. 2001: 307-312. (In Russ)]
7. *Sorrenti V., Salerno I., Giacomo C.* Imidazole derivatives as antioxidants and selective inhibitors of nNOS. *Nitric Oxide*. 2006; 14(1): 45-50.
8. *Bao Y.P., Williamson G., Tew D., Plumb G.W., Lambert N., Jones J.G., Menon D.K.* Antioxidant effects of propofol in human hepatic microsomes: concentration effects and clinical relevance. *Br. J. Anaesth.* 2008; 81(4): 584-589.
9. *Galebskaya L.V., Solovtsova I.L., Mikhailova I.L.* Device for recording photoinduced cytolysis. RF Patent for Utility model No. 114157 dated March 10, 2012.