

Влияние интенсивности фотодинамического воздействия с порфиразиновым красителем на тип клеточной гибели

Научный руководитель – Балалаева Ирина Владимировна

Панфилов Степан Николаевич

Студент (бакалавр)

Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

E-mail: panf.stepan@gmail.com

Фотодинамическая терапия (ФДТ) – перспективный метод лечения онкологических заболеваний, основанный на использовании фотосенсибилизаторов (ФС). ФС накапливаются в опухолевых клетках и при облучении светом приводят к образованию активных форм кислорода (АФК), вызывающих гибель клеток. Клеточный ответ на фотодинамическое воздействие зависит от многих параметров, включая интенсивность воздействия[1].

Цель исследования - анализ влияния интенсивности фотодинамического воздействия на пути гибели опухолевых клеток при использовании новосинтезированного фотосенсибилизатора PdbiPh – палладиевого комплекса тетра(4-бифенил)тетрацианопорфиразина, относящегося к группе перспективных порфиразиновых фотоактивных красителей[2]. Использовали клетки эпидермоидной карциномы человека A431-Casper3-BG, экспрессирующие FRET-сенсор активации каспазы-3 Casper3-BG. В интактных клетках преобладает флуоресценция акцептора (TagGFP2). Активация каспазы-3 приводит к расщеплению линкера DEVD и преобладанию флуоресценции донора (TagBFP).

Фотодинамическую активность PdbiPh для клеток эпидермоидной карциномы исследовали методом МТТ-теста. Была определена концентрация, ингибирующая жизнеспособность клеточной культуры на 50% (IC_{50}) при облучении в дозе 20 Дж/см² на длине волны 655 нм. Затем клетки инкубировали с PdbiPh в концентрациях $5 \times IC_{50}$ и $10 \times IC_{50}$. После облучения регистрировали динамику клеточной гибели через 4 и 12 ч методом конфокальной микроскопии. Оценивали флуоресценцию FRET-сенсора и целостность мембран (с помощью йодида пропидия, PI). Полученные изображения клеток классифицировали на "живые" (нет сигнала каспазы-3, нет PI); "каспаза+PI-" (есть сигнал каспазы-3, нет PI); "каспаза-PI+" (нет сигнала каспазы-3, есть PI); "сенсор-" (потеря сигнала сенсора).

При низкой интенсивности воздействия ($5 \times IC_{50}$) клетки преимущественно выживали (75% и 70% "живых" через 4 и 12 ч), наблюдалось увеличение группы "каспаза-PI+" (5% и 10% через 4 и 12 ч), свидетельствуя о каспаза-3-независимой гибели, а также появление клеток группы "каспаза+PI-" (5% через 12 ч). При высокой интенсивности ($10 \times IC_{50}$) доля "живых" клеток через 4 ч снижалась до 30%, к 12 ч они исчезали. При этом преобладала группа "каспаза-PI+" (>60% и >80% через 4 и 12 ч), свидетельствуя о преимущественной каспаза-3-независимой гибели.

Согласно полученным результатам, ФДТ с PdbiPh при повышении интенсивности инициирует преимущественно каспаза-3-независимую гибель с повреждением клеточных мембран. Полученные данные не только углубляют понимание механизмов ФДТ, но и открывают перспективы для разработки новых протоколов терапии, нацеленных на элиминацию опухолевых клеток с устойчивостью к индукции апоптоза.

Источники и литература

- 1) Mishchenko T. et al., doi: 10.1038/s41419-022-04851-4
- 2) Shilyagina N. et al., doi: 10.1007/s12551-023-01134-w