

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-141

ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ ПОТЕНЦИАЛ-ЗАВИСИМАЯ ДОСТАВКА НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ PLGA В КЛЕТКИ ГЛИОМ

PLGA-BASED INTRACELLULAR POTENTIAL-DEPENDENT DELIVERY OF NANOPARTICLES INTO GLIOMA CELLS

А. А. Филин¹, Е. А. Калачева¹, П. А. Мельников¹, Ю. А. Малиновская², Т. С. Ковшова²

¹Национальный медицинский исследовательский центр психиатрии и наркологии им. В. П. Сербского, Москва

²Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева, Москва

A. A. Filin¹, E. A. Kalacheva¹, P. A. Melnikov¹, Yu. A. Malinovskaya², T. S. Kovshova²

¹V. P. Serbsky National Medical Research Center for Psychiatry and Narcology, Moscow

²D. I. Mendelev Russian University of Chemistry and Technology, Moscow

✉ z99c@mail.ru

Аннотация

Перспективным направлением терапии низкодифференцированных опухолей головного мозга является разработка nanoразмерных систем доставки на основе биосовместимых полимеров (PLGA), способных доставлять терапевтические агенты в опухолевые клетки. В результате данной работы продемонстрирована возможность модуляции захвата PLGA клетками глиом путем модуляции уровня мембранныго митохондриального потенциала ($\Delta\psi_m$).

Abstract

A promising approach to the therapy of low-differentiated brain tumors is the development of nanosized delivery systems based on biocompatible polymers (PLGA) capable of delivering therapeutic agents to tumor cells. As a result of this work, the possibility of modulating the capture of PLGA by glioma cells by modulating the level of the membrane mitochondrial potential ($\Delta\psi_m$) has been demonstrated.

Существенной проблемой современной нейроонкологии на сегодняшний день является поиск современных методов терапии низкодифференцированных опухолей головного мозга (анапластической астроцитомы, мультиформной глиобластомы и медуллобластомы). Эффективному лечению препятствуют иммуносупрессивное микроокружение опухоли, гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и обширная клеточная гетерогенность. Лекарственные формы на основе наночастиц (НЧ) сейчас являются одной из наиболее перспективных ветвей развития терапии низкодифференцированных опухолей. НЧ позволяют инкапсулировать доставляемый терапевтический агент, защищая организм пациента от его системного, неспецифического влияния, и одновременно защитить сам препарат от агрессивной опухолевой среды. Механизм интернализации НЧ в клетки и внутриклеточное распределение, которые во многом зависят от митохондриального мембранныго потенциала ($\Delta\psi_m$), могут оказывать существенное влияние на эффективность терапии и диагностики. PLGA — линейный алифатический сополимер полимолочной (PLA) и полигликолевой (PGA) кислоты. Одобрен Food and Drugs Administration (FDA) и European Medicines Agency (EMA) для доставки около 15 препаратов при различного рода заболеванияй [1].

PLGA, содержащие флуоресцентную метку (Су5), получали методом простых эмульсий. Поглощение PLGA НЧ клетками изучали на первичных культурах человеческих глиом (3821, 5522, 4434), а также линиях мышиных (CT-2A, GL-261) и крысиных глиом (C6). Для окраски митохондрий потенциал-зависимым образом использовали красители JC-1 и TMRM (тетраметилродамин), для окраски лизосом — LysoTracker Green. Эффективность захвата PLGA-Су5 НЧ клетками определяли методом проточной цитометрии. Оценку путей интернализации и внутриклеточной локализации PLGA НЧ проводили методом конфокальной микроскопии. Изучали влияние потенциала митохондриальной мембранны клеток, а также модуляторов митохондриального потенциала [2-дезоксиглюкозы (2-DG) и фенформина (FFM)] на интернализацию PLGA НЧ.

Установлено, что первичные культуры опухолей головного мозга человека обладали большей способностью к захвату PLGA НЧ, по сравнению с линиями мышиных и крысиных глиом, при этом клетки 5522 и 3821 обладали высоким $\Delta\psi_m$, но низкой интернализацией (~ 32 и ~ 46 %), а клетки 4434, имея минимальный $\Delta\psi_m$, продемонстрировали 99–96%-е поглощение PLGA НЧ. Культуры 3821 и 5522 показали высокую степень интернализации

НЧ через кавеолин- и клатрин-зависимый эндоцитоз, что соотносится с высокими значениями $\Delta\psi_m$. Линия 4434 не демонстрировала колокализации НЧ с органеллами. Для клеток GL-261 был характерен преимущественно кавеолин-зависимый путь, а для СТ-2А и С6 — оба пути интернализации, несмотря на различные значения $\Delta\psi_m$. Модулятор потенциала 2-DG снижал $\Delta\psi_m$ в клетках 5522, изменяя путь эндоцитоза с клатрин-зависимого на кавеолин-зависимый. В клетках 3821 модулятор потенциала FFM повышал $\Delta\psi_m$ и интернализацию PLGA НЧ. В клетках СТ-2А модуляторы потенциала вызывали противоположные эффекты: 2-DG снижал интернализацию, а FFM, напротив, повышал. В клетках GL-261 добавление модуляторов потенциала обоих типов снижало захват НЧ.

Таким образом, поглощение PLGA НЧ клетками глиом зависело от уровня $\Delta\psi_m$. Его модуляция позволила изменять механизм эндоцитоза и эффективность интернализации, что открывает новые перспективы для таргетной доставки терапевтических агентов. Полученные данные могут стать основой для разработки новых стратегий терапии низкодифференцированных опухолей головного мозга.

Литература

1. Rafiei P., Haddadi A. A robust systematic design: optimization and preparation of polymeric nanoparticles of PLGA for docetaxel intravenous delivery // Materials Science and Engineering. 2019. Vol. 104.