СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ДЕКСТРАНОВ С РАЗЛИЧНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССОЙ, ОКИСЛЕННЫХ ХИМИЧЕСКИМ И РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКИМ МЕТОДАМИ, НА ПЕРИТОНЕАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ IN VITRO

Шкурупий В.А., Архипов С.А., Троицкий А.В., Лузгина Н.Г., Зайковская М.В., Гуляева Е.П., Быстрова Т.Н., Уфимцева Е.Г., Ильин Д.А.,
Ахраменко Е.С.

ГУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН, Новосибирск, Россия

К одному из направлений в современной фармакологии относят адресную доставку биологически активных веществ и лекарственных препаратов, которая может реализоваться путем создания композиций из биологически активных веществ и модифицированных биополимеров. В частности, для этих целей перспективны носители на основе окисленных декстранов. В настоящее время известны способы окисления декстранов: химические, с использованием йодной кислоты и ее солей и радиационно-химический, с использованием гамма-излучения, которые отличаются по технологической сложности и степени чистоты конечного продукта. В окисленном декстране, полученном с помощью этих методов, не исключено присутствие различных примесей, которые могут повлиять на степень его биосовместимости. В связи с этим актуально сравнение in vitro окисленных декстранов, полученных химическим и радиационно-химическим методами, с целью оценки степени их биосовместимости для получения оптимально химически чистых продуктов с высокой степенью биосовместимости.

Цель настоящего исследования состояла в оценке биосовместимости окисленных декстранов с различной молекулярной массой, полученных химическим (декстранали-ch) и радиационно-химическим методами окисления (декстранали-r), на культуре перитонеальных клеток.

Исследованы образцы декстранов, окисленных химическим (перманганатным - декстраналь-ch) и радиационно-химическом (декстраналь-r) методами. Образцы декстраналя-ch и декстраналя-r, полученные для биотестирования, представляли собой 2,5% водные растворы в 0,01 М трис-фосфатном буфере с pH 7,3. Изучали влияние декстраналя-ch и декстраналя-r на клетки перитонеального транссудата мышей-самцов линии BALB/c. Учитывали все типы перитонеальных клеток и активность перитонеальных макрофагов in vitro в зависимости от их молекулярной массы (35 и 60 кДа): декстраналь-r-35, декстраналь-r-60, декстраналь- ch-35 и декстраналь-ch-60. Оценку состояния клеток in vitro проводили через 24 часа после внесения дектсраналей в культуральные среды. Оценивали следующие показатели: плотность клеточного монослоя (среднее количество адгезированных клеток на одно поле зрения при увеличении x200), количество живых клеток в культуре (в тесте с трипановым синим), показатель активности клеток в культуре (по количеству распластанных макрофагов, доле в %).

Показано, что внесение в культуры клеток радиационно окисленных декстранов существенно влияет на жизнеспособность и активность перитонеальных клеток в культуре. По сравнению с контролем и группой культур, в которые вносили декстраналь-ch, доля жизнеспособных клеток достоверно снижается на 19-21 %. Кроме того, отмечено увеличение активности перитонеальных макрофагов при введении декстраналей -r и -ch. Установлено, что в изучаемой модели декстраналь-r в отличие от декстраналя-ch при биологическом тестировании проявляет цитотоксические свойства. При этом отмечено, что декстраналь-r-35 и декстраналь-r-60 кДа обладают одинаково выраженным по величине цитотоксическим действием.

Таким образом, декстранали-r, полученные радиационно-химическим способом, обладают меньшей биосовместимостью в сравнении с декстраналями–ch, что, вероятно, связано с микропримесями перекисных соединений, образующимися при радиолизе воды и самого декстрана. Более высокая биосовместимость декстраналей-ch в тестах на клеточных культурах коррелирует с УФ-спектром поглощения. Показано, что декстраналь-ch-35 практически не поглощает свет в длинноволновой части УФ-спектра (свыше 240 нм). Это может свидетельствовать об отсутствии примесей перекисных соединений и соединений с сопряженными двойными углерод-углеродными связями, которые могут образовываться при разрушении пероксидных групп в декстране. Напротив, при радиационно-химическом способе окисления декстрана они присутствуют, о чем свидетельствует увеличение оптической плотности водных растворов декстрана в диапазоне длин волн 240 – 290 нм при увеличении поглощенной дозы ионизирующего излучения от 10 до 50 кГр. Таким образом, декстранали-ch, полученные с помощью перманганатного метода окисления декстрана, обладают высокой биосовместимостью и могут быть перспективными матрицами для биологически активных веществ с целью их адресной доставки в различные клетки-мишени.

Работа выполнена в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2007-2012 годы», Государственный контракт №02.513.11.3183 от «23» апреля 2007 г.