

УДК 602.621

А. С. Барбарович¹, А. А. Барбарович², М. Ф. Пальцева², Т. В. Ветошкина²¹Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,

²Учреждение здравоохранения

«Гомельская университетская клиника —

областной госпиталь инвалидов Великой Отечественной войны»,

г. Гомель, Республика Беларусь

ЭЛЕКТРОПОРАЦИЯ: ПРИМЕНЕНИЕ

Введение

Для увеличения проникновения лекарств через клеточную мембрану используют различные методики: химическая модификация препарата, разработка соответствующей формулы препарата, механическое повреждение или разрушение мембраны. В последние годы все большее распространение получает электропорация (electroporation), или электропермембилизация (electropemabilization), основанная на использовании коротких электрических импульсов, способных увеличить мембранную проницаемость. Метод оказался очень эффективным в увеличении трансмембранного потока различных веществ, прежде всего противоопухолевых лекарств и ДНК [1].

Цель

Проведение анализа литературных данных, посвященных применению электропорации.

Материал и методы исследования

Общая характеристика метода. Электропорация двойного липидного слоя биологических мембран происходит при воздействии электрических импульсов определенной силы и продолжительности. Эти параметры, естественно, должны превышать пороговые значения, чтобы произошла электропермембилизация. В зависимости от типа клеток и типа молекул, которые необходимо доставить в клетки, диапазон напряженности поля варьирует от 100 В/см до нескольких тысяч В/см, а продолжительность импульса измеряется от 100 микросекунд до десятка миллисекунд. На процесс электропорации влияют и другие факторы: размер и форма клетки, электрическая проводимость внутри и снаружи клеток, толщина и проводимость мембраны, а также механическое напряжение на мембране.

Точный механизм электропорации до сих пор еще неизвестен, хотя данное явление уже используется практически, в том числе и в медицине. Предполагают, что в бислойной липидной мембране под действием высокоинтенсивных электроимпульсов происходит локальная обратимая перестройка ее структуры, приводящая к появлению сквозного водного канала. Возможны две основные конфигурации поры — гидрофильная и гидрофобная. В гидрофильной поре стенки выстланы фосфолипидными «головами», а в гидрофобной поре — липидными «хвостами». При малых радиусах энергетически выгодной является гидрофобная пора, а при больших радиусах — гидрофильная пора. В зависимости от характеристики электрического импульса, ионной и молекулярной среды с обеих сторон мембраны первично возникающие поры могут увеличиваться, находиться открытыми в течение некоторого промежутка времени и облегчать пассивный и активный транспорт ионов и молекул через поры.

При силе поля приблизительно в 1000 В/см и продолжительности импульса в 1000 мкс, например, в раковые клетки хорошо проникает препарат «Блеомицин». Напряжение электрического поля в 200 В/см и продолжительность электрического импульса в десятки миллисекунд оптимальны для доставки ДНК [2]. Важным является то, что поры в мембранах живой ткани способны быстро (за тысячные доли секунды) исчезать после прекращения действия импульсного электрического поля без остаточных изменений исходной проницаемости клеток. Для медицинской практики не менее важно, что через образующиеся при электропорации отверстия из внеклеточного пространства в цитоплазму проникают вещества, которые в норме не способны проникать через мембрану клетки. В результате увеличения проницаемости мембран для молекул, находящихся в межклеточном пространстве, концентрация предварительно введенных в организм лекарственных препаратов внутри клеток в процессе электропорации может быть локально повышена в десятки и сотни раз по сравнению с обычными условиями [3].

Электропорация сегодня используется для решения широкого круга биомедицинских задач — от доставки лекарств и генов в клетку, до слияния и сортировки клеток, а также в биотехнологии. Она стала важнейшим компонентом технологии клонирования млекопитающих [1,4].

Электропорационная терапия. Термин «электропорационная терапия» (electroporation therapy) был введен для описания доставки с терапевтическими целями лекарств посредством электропорации. Первое сообщение, предвещавшее потенциально широкое терапевтическое использование электропорации, было опубликовано М. Okino и Н. Mohri еще в 1987 г. Авторы лечили мышь-опухоленоситель с помощью инъекций «Блеомицина» и наблюдали замедление роста опухоли только тогда, когда опухоль после назначения препарата была электропорирована. С тех пор в различных странах стали использовать метод для лечения злокачественных опухолей у человека и животных, применяя различные комбинации лекарственных средств и вариации проведения электропорации. В отечественной литературе этот метод довольно часто называют электрохимиотерапией. Надо подчеркнуть, что для электрохимиотерапии наряду с использованием высокоинтенсивных электрохимических импульсов часто применяют импульсный ток обычной интенсивности.

Электропорационная терапия может проводиться *ex vivo* и *in vivo*. Для терапии *ex vivo* аутогенные клетки или гетерогенные клетки, взвешенные в водных растворах, смешиваются с лекарственным веществом. Такая суспензия помещается между электродами, а затем подвергается воздействию короткими высоковольтными электрическими импульсами. «Загруженные» лекарством клетки либо далее обрабатываются перед назначением пациенту, либо они могут быть непосредственно введены пациенту. При терапии *in vivo* терапевтический агент назначается для системного применения или же локально, а затем область патологического очага (например, опухоль) подвергается электропорационному воздействию. Как показывают исследования, электропорация опухоли может увеличить внутриклеточную концентрацию препарата до уровня, который в несколько тысяч раз превышает тот, который может быть получен при обычной химиотерапии. Поэтому высокие внутриклеточные концентрации могут быть достигнуты в электропорированных клетках опухоли при относительно низких внеклеточных концентрациях препарата. Так как электропорация расширяет проницаемость клетки кратковременно, препарат, который проник в клетку, попадает в ловушку, когда проницаемость мембраны восстанавливается, таким образом значительно увеличивается внутриклеточное пребывание препарата и его терапевтическая эффективность. Это приводит к высокой локальной фармакотерапевтической активности лекарства при отсутствии системных токсиче-

ских побочных реакций. Наиболее активно электропорационный метод используется в отношении лечения рака, как в эксперименте, так и в клинике. Кроме того, в различных областях медицины электропорация используется для переноса лекарств и активных биологических субстанций через кожный барьер [4, 5].

Одним из недостатков электрохимиотерапии с использованием коротких импульсов электрического тока является обязательное применение контактирующих с тканями опухоли токонесущих электродов. Электропорация является также составным компонентом метода, названного аквафорезом (aquaphoresis). Его применяют для неинвазивного трансдермального введения лекарственных веществ при коррекции возрастных изменений кожи и терапии целлюлита.

Аквафорез включает следующие этапы:

- подготовка кожи к электропорации, заключающаяся в воздействии инфракрасным (830 нм) и красным (685 нм) лазерным излучением;
- электропорация, обеспечивающая усиленный транспорт лекарственных веществ за счет образования электропор при воздействии серий электрических импульсов;
- проведение электромиостимуляции и интерференцтерапии, оказывающих трофотрофный эффект и стимулирующих мышцы и приводящих к улучшению васкуляризации тканей, нормализации обмена веществ и равномерному распределению введенных веществ в коже и подкожно-жировой клетчатке;
- лимфодренаж, осуществляемый с помощью Н-волн с длительностью двойного импульса 11,2 мс, которая считается оптимальной для стимуляции нервных окончаний, альфа- и бета-волокон. Такое воздействие обеспечивает активацию механизма мышечной и венозной помпы, способствует детоксикации, удалению избытка жидкости и конечных продуктов метаболизма из клеточных пространств, что значительно усиливает терапевтическое действие введенных при электропорации лекарственных веществ [4, 5].

Результаты исследования и их обсуждение

Метод электропорации применяется при лечении онкологических заболеваний: необратимая электропорация опухоли приводит к локальному разрушению её клеток, микросекундные электрические импульсы напряжением 2000-3000 Вольт в мембранах клеток опухоли образуются микропоры, что приводит к нарушению клеточного гомеостаза и гибели клеток.

Выводы

Таким образом, электропорация используется в онкологии, дерматологии, косметологии и др. Метод применяется для решения широкого круга биомедицинских задач — от доставки лекарств и генов в клетку до слияния и сортировки клеток, а также в биотехнологии. Она стала важнейшим компонентом технологии клонирования млекопитающих. Электропорация — перспективный метод, обладающий большим потенциалом применения в медицине.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Улащик, В. С. Физиотерапия. Новейшие методы и технологии : справочное пособие / В. С. Улащик. — Мн. : Книжный Дом. — 2013. — 448 с.
2. Улащик, В. С. Большой справочник физиотерапевта / В. С. Улащик. — Минск : Книжный Дом. — 2012. — 640 с.
3. Александров, В. В. Основы восстановительной медицины и физиотерапии / В. В. Александров, А. И. Алгазин. — М., 2010. — 144 с.
4. Илларионов, В. Е. Современные методы физиотерапии / В. Е. Илларионов, В. Б. Симоненко. — М., 2007. — 176 с.
5. Пономаренко, Г. Н. Инновационная физиотерапия / Г. Н. Пономаренко // Киев, 2010. — 243 с.