

УДК 576

Фань Вэнь

Магистр,

Биологический факультет, кафедра клеточной биологии и гистологии,
Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова

2514622582@qq.com

Fan Wen

Master, Faculty of Biology, Department of Cell Biology and Histology,
Lomonosov Moscow State University

2514622582@qq.com

Влияние наночастиц с лекарственными препаратами на макрофаги у больных туберкулёзом

Effect of drug-containing nanoparticles on macrophages in tuberculosis patients

***Аннотация:** Цель исследования данной статьи заключается в изучении влияния наночастиц, содержащих лекарственные препараты, на макрофаги у пациентов, страдающих туберкулёзом. Методы, примененные в исследовании, включают эксперименты на культурах клеток макрофагов, обработку наночастицами с различными лекарственными препаратами, а также анализ воздействия на морфологию и функции макрофагов в условиях инфекции туберкулезом. Результаты исследования позволяют определить эффект использования наночастиц с лекарственными препаратами на макрофаги у пациентов с туберкулёзом, выявляются изменения в активности клеток и их способности бороться с бактерией. Выводы работы указывают на потенциальную эффективность использования наночастиц для доставки лекарственных препаратов в макрофаги в контексте лечения туберкулёза, что может улучшить результаты терапии и снизить необходимость в больших дозировках препаратов.*

***Ключевые слова:** наночастицы, лекарственные препараты, макрофаги, туберкулёз, воздействие, лечение.*

***Abstract:** The purpose of the study in this article is to study the effect of drug-containing nanoparticles on macrophages in patients suffering from tuberculosis. Methods used in the study include experiments on macrophage cell cultures, treatment of nanoparticles with various drugs, and analysis of the effects on the morphology and function of macrophages during tuberculosis infection. The results of the study make it possible to determine the effect of using nanoparticles with drugs on macrophages in patients with tuberculosis, identifying changes in the activity of cells and their ability to fight the bacterium. The findings of the work indicate the potential effectiveness of using nanoparticles for drug delivery to macrophages in the context of the treatment of tuberculosis, which can improve the results of therapy and reduce the need for large dosages of drugs.*

Key words: *nanoparticles, drugs, macrophages, tuberculosis, exposure, treatment.*

Введение.

Туберкулез (ТБ) – это инфекционное заболевание, вызываемое микобактериями туберкулеза (МТБ), которое представляет серьезную угрозу глобальному общественному здравоохранению. Из-за высокой частоты побочных реакций, связанных с традиционными схемами лечения, существует острая необходимость в более совершенных альтернативных методах лечения. Олигодезоксинуклеотиды CpG (CpG ODNs) представляют собой синтетические олигодезоксирибонуклеотидные последовательности. Они могут индуцировать иммунный ответ типа Th1, стимулируя Toll-подобные рецепторы (TLR) в иммунных клетках млекопитающих, тем самым убивая Mtb. Однако из-за отрицательного заряда и легкой деградации ОДН CpG необходимо доставлять их в клетки с помощью наноматериалов. PCN-224 (далее PCN), как металлоорганический каркас на основе ионов циркония и порфириновых лигандов, не только обладает преимуществом высокой нагрузочной способности препарата, но и молекула порфирина в нем является разновидностью фотосенсибилизатора, что позволяет этим наноконструкциям играть роль в фотодинамической терапии (ФДТ) при доставке CpG ODNs.

Кроме того, поскольку Mtb в основном содержится в макрофагах, нацеливание противотуберкулезных препаратов на макрофаги полезно для улучшения противотуберкулезного эффекта. Фосфатидилсерин (ФС) представляет собой биологический мембранный фосфолипид, который обычно находится на внутренней стороне клеточных мембран, например, в клетках растений и млекопитающих. Когда происходит апоптоз, ФС может перемещаться с внутренней стороны клеточной мембраны на поверхность клеточной мембраны, демонстрируя специфический сигнал «съешь меня», который может быть распознан специфическими рецепторами макрофагов. Таким образом, можно использовать это свойство ФС в отношении макрофагов для создания биоинспирированных таргетных систем доставки лекарств.

В настоящее время Всемирная организация здравоохранения рекомендует четыре препарата первой линии: изониазид (INH), рифампицин (RFP), пипразинамид (PZA) и этамбутол (EMB) в качестве основных препаратов для лечения лекарственно-чувствительного туберкулеза с 6-месячным курсом [1]. Однако эта схема имеет недостатки, такие как длительный курс лечения, высокая доза и высокая частота побочных эффектов, которые часто приводят к плохому соблюдению пациентами режима лечения, тем самым ускоряя развитие лекарственно-устойчивого туберкулеза (ЛУ-ТБ), значительно увеличивая медицинские риски и социально-экономическое бремя. Поэтому существует острая необходимость в более совершенных альтернативных методах лечения.

Результат.

Олигодезоксинуклеотиды CpG (CpG ODNs) представляют собой синтетические одноцепочечные молекулы дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), содержащие неметилированные мотивы цитозин-фосфат-гуанина (CpG) с гексамерной последовательностью в качестве ядра. ОДН CpG можно использовать в качестве иммунного адъюванта или отдельного иммунотерапевтического агента. ОДН CpG могут быть легко распознаны иммунной системой млекопитающих и способствовать выработке цитокинов Т-хелперов типа 1 (Th1), таких как IL-12, путем стимуляции Toll-подобных рецепторов (TLR) в эндолизосомах в клетках, таких как макрофаги, которые, в свою очередь, индуцируют сильный иммунный ответ Th1. Эта иммуностимулирующая активность делает использование CpG ODNs в иммунотерапии очень привлекательным. CpG ODNs в качестве иммунного адъюванта могут усиливать иммунный эффект вакцины Бациллы Кальметта-Герена (БЦЖ). Тем не менее, CpG ODNs трудно пересекать клеточные мембраны, потому что CpG ODNs отрицательно заряжены и восприимчивы к деградации нуклеазами. Таким образом, то, как CpG ODN интернализируется антигенпрезентирующими клетками, важно для индуцирования иммунного ответа. Доставка CpG ODN с использованием наноматериалов может улучшить клеточное поглощение CpG ODNs и повысить терапевтическую эффективность [2].

Металлоорганические каркасы (MOFs) представляют собой пористые материалы со специфической структурой, образованной самосборкой металлических кластеров и органических лигандов посредством координационных связей, которые обладают такими преимуществами, как легкий синтез, высокая лекарственная нагрузка и хорошая биосовместимость. Они имеют многообещающее применение в доставке лекарств и лечении заболеваний. Являясь разновидностью MOFs, Zr-MOFs PCN-224 на основе порфирина (далее именуемый PCN) не только обладает вышеуказанными преимуществами, но и молекулы порфирина в нем также могут быть использованы непосредственно в качестве эффективного фотосенсибилизатора для фотодинамической терапии (ФДТ).

ФДТ является кислородозависимой терапией, основанной на взаимодействии фотосенсибилизатора (ФС), света и молекулярного кислорода, т.е. фотосенсибилизатор продуцирует активные формы кислорода (АФК), в основном синглетный кислород (1O_2), при облучении определенной длиной волны света, который затем разрушает клеточные мембраны и ДНК через АФК, что приводит к утечке клеточных компонентов и мембранных транспортных систем и разрыву одноцепочечной и двухцепочечной ДНК соответственно, что обеспечивает бактерицидный эффект [3].

Кроме того, ФДТ также может улучшить бактерицидный эффект, активируя иммунный ответ организма. Бактерицидное действие ФДТ на микроорганизмы изучалось еще 100 лет назад. Однако потенциал ФДТ в инактивации патогенных микроорганизмов постепенно забывается по разным причинам, таким как слабая реакция некоторых известных патогенов, особенно грамотрицательных бактерий, на наиболее традиционную

фотодинамическую терапию и открытие и успешное применение антибиотиков. Позже, из-за появления лекарственно-устойчивых бактериальных патогенов, таких как метициллин-резистентный золотистый стафилококк (MRSA) и *Vibrio traumaticus*, ФДТ была повторена для лечения бактериальных инфекций. Исследования показали, что ФДТ может инактивировать *Mycobacterium bovis* (*M. bovis*), Микобактерия Маринум (*M. marinum*) и *Mtb in vitro* и модели заражения животных. Это говорит о том, что ФДТ может быть использована в лечении туберкулеза. Однако, поскольку *Mtb* в основном содержится в макрофагах, наноматериалы, используемые для ФДТ, должны обладать свойствами, нацеленными на макрофаги, для достижения оптимальных терапевтических результатов.

Фосфатидилсерин (ФС) в избытке содержится во внешней мембране апоптотических клеток и играет важную роль в распознавании и фагоцитозе апоптотических клеток макрофагами. Противотуберкулезная терапия, нацеленная на макрофаги, может быть достигнута с помощью наноматериалов с покрытием из полистирола для увеличения фокальных концентраций лекарств и эффективного снижения системной токсичности лечения.

Уместно построить наноконпозиты, нацеленные на макрофаги для фотодинамической терапии в сочетании с иммунотерапией. PCN, при этом, используется в качестве фотосенсибилизатора и носителя, загруженного CpG ODNs. PCN, загруженный CpG ODNs, дополнительно инкапсулируется PS для получения композитного наноматериала PCN-CpG@PS. Доставка CpG ODNs с PCN может, с одной стороны, способствовать клеточному поглощению CpG ODNs, а с другой стороны, PCN может действовать как фотосенсибилизатор для ФДТ. В то же время ФС добился нацеливания PCN-CpG@PS на макрофаги. ФДТ в сочетании с иммунотерапией оказывает противотуберкулезное действие при одновременном снижении частоты побочных лекарственных реакций и лекарственной устойчивости.

Обсуждение.

Успешно разработаны универсальные наноконпозиты на основе наночастиц PCN (PCN-CpG@PS), загруженных CpG и модифицированных PS на поверхности, в которых агенты фотодинамической, иммуно- и таргетной терапии были хорошо скомбинированы для достижения их взаимодополняющих преимуществ для достижения синергетического противотуберкулезного эффекта. При этом, во-первых, тесты на цитотоксичность показали безопасность наноконпозитов, а результаты эксперимента АФК показали, что наноконпозиты могут эффективно высвобождать большое количество АФК при лазерном облучении, а результаты иммунофлюоресценции легких показали, что наноконпозиты могут усиливать иммунный ответ типа Th1. Кроме того, эксперименты показали, что PS может нацеливаться на наноконпозиты макрофагов в месте заражения *Mtb*. Результаты бактерицидных экспериментов *in vitro* и *in vivo* показали хороший противотуберкулезный эффект PCN-CpG@PS.

Заключение.

Рост микробной резистентности к традиционным антибиотикам является серьезной проблемой здравоохранения во всем мире, требующей разработки новых бактерицидных стратегий. Антимикробная фотодинамическая терапия (ФДТ), которая генерирует АФК, воздействуя на несколько мишеней, вряд ли вызовет бактериальную резистентность и, таким образом, привлекла большое внимание. В последние годы все большее число исследований сосредоточено на разработке новых стратегий, основанных на ФДТ. Например, одиночный ФДТ или ФДТ в сочетании с другими методами лечения. Эти методы показали отличное воздействие как на грамположительные, так и на грамотрицательные бактерии, но необходимо учитывать множество факторов. Например, глубина проникновения света облучения, скорость доставки лекарства, разрешение на использование, неселективный убивающий эффект АФК и т.д. В исследовании использовалось внешнее лазерное облучение для удобства и безопасности. Однако, поскольку легкие трехмерные и неоднородной формы, существует ограниченная геометрия пятна облучения (0,5 см в диаметре). Возможно, результаты групп с лазерным облучением были бы лучше, если бы было принято внутреннее лазерное облучение. Кроме того, до сих пор отсутствуют стандарты клинического применения ФДТ. Таргетная ФДТ привлекает все большее внимание благодаря своей способности точно воздействовать на поражения, увеличивать доставку лекарств и уменьшать побочные эффекты. Фосфатидилсерин широко используется для нацеливания макрофагов в опухолях, фиброз печени и лечение других заболеваний. Существует также исследование, в котором изучалась наноплатформа, декорированная фосфатидилсерином, для лечения туберкулезного менингита, который продемонстрировал, что фосфатидилсерин подходит для таргетирования макрофагов. Чтобы преодолеть устойчивость к противомикробным препаратам и к обычным антибиотикам, наночастицы обеспечивают интеллектуальные стратегии для объединения различных элементов вместе и демонстрируют значительный потенциал в клиническом применении.

Литература

1. Захаров А.В., Эргешов А.Э., Хохлов А.Л., Кибрик Б.С. Эффективность сочетания изониазида и наночастиц серебра в лечении экспериментального туберкулеза // *Туберкулез и болезни легких*. 2022. № 95(6). С. 51-58.
2. Захаров А. В., Кибрик Б. С., Павлов А.В. Эффективность лечения экспериментального туберкулеза с использованием наночастиц серебра // *Туберкулез и болезни легких*. - 2020. - № 4. - С. 151-152.
3. Егорова Е. М., Ревина А. А., Ростовщикова Т. Н., Киселева О. И. Бактерицидные и каталитические свойства стабильных металлических наночастиц в обратных мицеллах // *Вестник московского университета. Сер. 2. Химия*. - 2021. - Т. 42 5. - С. 332-338.

References

1. Zakharov A.V., Ergeshov A.E., Khokhlov A.L., Kibrik B.S. The effectiveness of the combination of isoniazid and silver nanoparticles in the treatment of

experimental tuberculosis // Tuberculosis and lung diseases. 2022. No. 95(6). pp. 51-58.

2. Zakharov A.V., Kibrik B. S., Pavlov A.V. *The effectiveness of treatment experimental tuberculosis using silver nanoparticles // Tuberculosis and lung diseases. - 2020. - No. 4. - pp. 151-152.*

3. Egorova E. M., Revina A. A., Rostovshchikova T. N., Kiseleva O. I. *Bactericidal and catalytic properties of stable metal nanoparticles in reverse micelles // Bulletin of the Moscow University. Ser. 2. Chemistry. - 2021. - vol. 42 5. - pp. 332-338.*