БИОФИЗИКА, 2016, том 61, вып. 3, с. 547–557

БИОФИЗИКА СЛОЖНЫХ СИСТЕМ

УДК 577.344.3

БИОФИЗИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ

© 2016 г. А.Б. Узденский

Академия биологии и биотехнологии, Южный федеральный университет, 344090, Ростов-на-Дону, просп. Стачки, 194/1

E-mail: auzd@yandex.ru

Поступила в редакцию 29.11.15 г.

Фотодинамический эффект – повреждение светом окрашенных клеток в присутствии кислорода – применяется для разрушения опухолевых и других патологически измененных клеток. В обзоре рассмотрен ряд биофизических механизмов фотодинамического действия на клетки. Обсуждаются вопросы о значении двух механизмов фотодинамического повреждения клеток: первого – с переносом электронов или протонов и второго – с участием синглетного кислорода. Другой дискуссионный вопрос – что важнее для фотодинамического повреждения клеток: окисление мембранных липидов или белков. Рассмотрены проблемы фототрансформации фотосенсибилизаторов, их внутриклеточной локализации и доставки к патологически измененным клеткам и тканям. Приведены данные о нанотранспортерах фотосенсибилизаторов. Рассмотрены потенциальные сенсоры активных форм кислорода в клетках.

Ключевые слова: фотодинамический эффект, фотосенсибилизатор, биофизика.

Фотодинамический эффект – повреждение светом клеток, окрашенных красителями-фотосенсибилизаторами (ФС), в присутствии кислорода – применяется в фотодинамической терапии (ФДТ) для разрушения нежелательных и патологически измененных клеток, таких как опухоли или микроорганизмы [1–3]. Этот многоступенчатый процесс включает первичные фотофизические процессы (поглощение квантов света и перенос энергии фотовозбуждения ФС на соседние молекулы), фотохимические реакции, темновые реакции и интегральные клеточные ответы, приводящие к выживанию или смерти. В организме добавляются стадии доставки света и фотосенсибилизатора к патологически измененным тканям, тканевые реакции, выведение излишнего красителя, придающего фоточувствительность глазам и коже, переваривание разрушенной ткани и заживление раны.

ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРЫ

Фотосенсибилизаторы – нетоксичные красители, хорошо поглощающие свет в диапазоне 600–800 нм. В этой области спектра, называемой «терапевтическим окном», излучение слабо поглощается основными пигментами: меланином, гемоглобином, миоглобином или цитохромами клеток и глубже проникает в ткани [3]. Основные требования к фотосенсибилизаторам включают высокие коэффициенты поглощения света и квантовые выходы синглетного кислорода и других активных форм кислорода (АФК), которые вызывают окислительный стресс и смерть клеток. В качестве ФС в настоящее время используются, главным образом, соединения порфиринового ряда: производные гематопорфирина (фотофрин, фотогем), хлорины (mTHPC или фоскан, радахлорин, моноаспартилхлорин e_6 или талапорфин), фталоцианины (фотосенс, Pc4), производные бензопорфина (визудин или вертепорфин), 5-аминолевулиновая кислота (ALA), естественный предшественник протопорфирина IX (PpIX), и ее метилированная форма (метвикс), гиперицин и некоторые другие [1–3]. Поскольку идеальный фотосенсибилизатор, удовлетворяющий всем требованиям, пока не найден, химики все время синтезируют и испытывают новые фотосенсибилизаторы.

ДВА ТИПА ФОТОДИНАМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Первичные фотофизические процессы иллюстрируются классической схемой Яблонского [4,5]. Поглотив фотон, молекула переходит из основного синглетного состояния S_0 с антипараллельными спинами внешних электронов в возбужденное синглетное состояние S_1, Через 10^{-9}–10^{-8} с в результате высвечивания кванта флуоресценции или безизлучательного перехода

Сокращения: ФС – фотосенсибилизатор, ФДТ – фотодинамическая терапия, АФК – активные формы кислорода.

молекула возвращается в исходное состояние. Кроме того, интеркомбинационная конверсия, когда происходит обращение спина валентного электрона, может переводить молекулу в триплетное состояние T_1 с параллельными спинами электронов. Переход между триплетным T_1 и синглетным S_0 состояниями запрещен, поэтому его вероятность мала и время жизни триплетного состояния значительно выше: 10^{-4}–10^2 с. За это время энергия может передаться соседним молекулам с образованием высокоактивных химических продуктов, инициирующие фатальные для клетки процессы.

Выделяют два типа основных фотохимических механизма фотодинамических процессов. В реакциях I типа фотовозбужденные молекулы ФС непосредственно реагируют с соседними молекулами с переносом электрона или протона. Донорами электронов для фотодинамических реакций I типа могут служить витамины, восстановленные коферменты, флавиновые соединения, аминокислоты, ненасыщенные липиды, азотистые основания [6,7]. При переносе электрона на кислород образуется анион-радикал $O_2^{\bullet-}$. Вероятность прямого переноса электрона от фотовозбужденного красителя на кислород невелика, но кислород может восстанавливаться полувосстановленными продуктами, образующимися в фотодинамических реакциях I типа. В клетках супероксиддисмутаза катализирует конверсию $O_2^{\bullet-}$ в перекись водорода. В присутствии ионов железа может происходить реакция Фентона, в которой образуется чрезвычайно активный гидроксил-радикал $OH^{\bullet}$. Благодаря очень высокому редокс-потенциалу ($E_o' = +2{,}3$ В) он активно окисляет различные окружающие молекулы с образованием более сложных радикалов [8]. Вследствие высокой реактивности время жизни $OH^{\bullet}$ в клетке очень мало, диффузионный путь короток и действие ограничено непосредственной близостью к месту генерации. Но так как в фотодинамических процессах $OH^{\bullet}$ может рождаться из супероксид-аниона, который обладает невысокой реакционной способностью и диффундирует на значительные расстояния, то его действие может быть весьма удалено от молекул ФС.

Необходимо отметить, что $O_2^{\bullet-}$ может выступать как мессенджер в системе внутриклеточной сигнализации и запускать цепочку биохимических регуляторных процессов, которые усиливают исходный сигнал и могут привести к клеточной смерти [9,10].

В фотодинамических реакциях II типа энергия фотовозбуждения электронов переносится от красителя сразу на кислород. Обычный молекулярный кислород O_2 – бирадикал с двумя неспаренными электронами. Его основное состояние – триплетное ($^3\Sigma_g^-$). Оно устойчиво, поскольку электроны локализуются на разных атомах, что снимает запрет Паули на существование в одной квантовой системе двух частиц в одинаковых квантовых состояниях. При переносе энергии от фотовозбужденной молекулы ФС на кислород последний переходит в синглетную форму. Возможны два варианта синглетного кислорода. В одном оба электрона с противоположными спинами располагаются на разных орбиталях. Эта форма ($^1\Sigma_g^+$) слишком короткоживущая (несколько пикосекунд) и не имеет биологического значения. Во втором случае оба спаренных электрона располагаются на одной орбитали. Вторая орбиталь свободна и может принять два электрона. Именно об этой форме ($^1\Delta_g$) говорят как о синглетном кислороде $^1O_2$ [11–14]. $^1O_2$ – высокоактивный электрофильный агент, способный окислять различные органические вещества. Одной из наиболее важных мишеней $^1O_2$ служат ненасыщенные липиды биомембран. Образующиеся в результате их окисления гидроперекиси инициируют цепное перекисное окисление липидов, приводящее к нарушению структуры и целостности биомембран [8,11]. $^1O_2$ также реагирует с органическими молекулами, содержащими азот или серу, в частности с аминокислотами триптофаном, гистидином, тирозином, метионином, цистеином [15,16].

Вследствие высокой реактивности время жизни $^1O_2$ в воде составляет 2–5 мкс, а в клетках, содержащих много тушителей, в основном, аминокислот и белков, – значительно ниже. По оценке, сделанной в работе [17], диффузионный путь $^1O_2$ в клетках не превышает 10–20 нм, а по данным А.А. Красновского составляет порядка 9 нм в цитоплазме и 4–13 нм в биомембранах [12,13]. Следовательно, $^1O_2$ может окислять только молекулы, непосредственно окружающие фотосенсибилизатор. Поэтому фотодинамическое повреждение клетки во многом определяется внутриклеточной локализацией фотосенсибилизатора.

КАКОЙ ТИП ФОТОДИНАМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ БОЛЕЕ ЭФФЕКТИВЕН?

В литературе дебатируются вопросы о том, какие фотодинамические реакции, I или II типа, вносят больший вклад в фотодинамическое повреждение клеток, и что важнее, воздействие на мембранные липиды или белки? Это далеко

не простые вопросы, так как выбор пути фотодинамической реакции по первому или второму типу зависит от многих параметров – микроокружения ФС, соотношения скоростей реакций, доступности кислорода, характера мишеней и т.д.

Радикальные пары, образующиеся в реакциях I типа, более стабильны в водных растворах с высокой диэлектрической проницаемостью, где затруднен обратный перенос электронов. С другой стороны, растворимость и время жизни $^1O_2$ выше в неполярных липидных средах [18,19]. Следовательно, условия протекания реакций I типа предпочтительней в цитозоле, а реакции II типа – в клеточных мембранах. Отсюда можно предположить, что фотодинамические реакции с участием гидрофильных ФС должны идти преимущественно по первому типу, а липофильных, попадающих в гидрофобную среду внутри мембран, – по второму. Но благодаря высокой реакционной способности $^1O_2$, на два порядка превышающий окислительную способность обычного кислорода, в механизме фотодинамического действия большинства фотосенсибилизаторов (порфиринов, хлоринов, фталоцианинов и др.) доминируют реакции II типа с участием синглетного кислорода [11,14,20].

В растворах фотодинамическое действие различных ФС коррелирует с квантовым выходом $^1O_2$ [15,19,21,22]. В клетках результаты фотодинамического действия разных ФС могут существенно различаться, так как квантовый выход и время жизни $^1O_2$ зависят от локализации и микроокружения молекул фотосенсибилизаторов [18,19]. Так, в работе [19] сравнили фотодинамическое действие на клетки HeLa двух катионных фотосенсибилизаторов: метиленового синего и кристаллвиолета. Метиленовый синий – типичный ФС II типа с высоким квантовым выходом $^1O_2$ в различных биологических и химических средах. Кристаллвиолет селективно локализуется в митохондриях. Квантовый выход фотогенерации $^1O_2$ при фотосенсибилизации клеток кристаллвиолетом низок, и он действует как ФС I типа. Но фототоксический эффект кристаллвиолета оказался примерно таким же, как у метиленового синего, хотя он генерирует на порядок меньше активных продуктов. В этом случае критическим моментов для фототоксичности кристаллвиолета явилась не фотохимическая реакционная способность, а его митохондриальная локализация [19].

ИЗМЕНЕНИЯ МЕХАНИЗМА ФОТОДИНАМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ В ХОДЕ ФДТ

Механизм фотодинамического эффекта может изменяться в ходе воздействия. При интенсивном фотодинамическом воздействии активно потребляется кислород, и его содержание в тканях быстро падает, что приводит к тканевой гипоксии, снижает фотогенерацию $^1O_2$ и замедляет повреждение ткани [23–25]. Это особенно заметно в опухолях, где и без фотодинамического воздействия имеются гипоксические условия. Поэтому для повышения фотодинамической эффективности дозу облучения часто фракционируют, облучая опухоль в импульсном режиме, чтобы в перерывах между световыми импульсами кровоток успевал восстановить содержание кислорода в ткани [26,27].

Хорошие результаты получаются, если вводить ФС очень медленно, непрерывно поддерживая его тканевый уровень, или длительно, в течение нескольких дней и даже недель облучать опухоль светом невысокой интенсивности. Эти подходы назвали метрономной ФДТ. При таких низкоинтенсивных воздействиях смерть клеток в основном происходит в результате апоптоза, а не некроза. Например, добавляя 5-аминолевулиновую кислоту в ежедневный рацион крыс в течение 10 дней, можно существенно повысить накопление PpIX в опухолях мозга, поскольку при медленном введении ALA легче преодолевает гематоэнцефалический барьер [28]. Длительное облучение осуществляют путем имплантации светодиодов или оптоволоконных световодов. Была показана потенциальная эффективность метрономного подхода для лечения глиом – опухолей мозга, устойчивых к химиотерапии и лучевой терапии [29–31].

ФОТОТРАНСФОРМАЦИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ

Другой причиной изменения механизма фотодинамического эффекта в ходе воздействия может стать фотодеградация или фототрансформация фотосенсибилизаторов. Фотодеградация ФС с разрывом ковалентных связей и раскрытием макроциклов при интенсивном и длительном действии света может происходить в результате непосредственного фотовозбуждения молекул ФС или при атаке синглетным кислородом или радикальными продуктами фотодинамических реакций I типа. Фототрансформации ФС могут вызывать изменения спектров поглощения и флуоресценции. Продукты фотодеградации часто не поглощают видимый свет и не флуоресцируют, поэтому говорят о

фотообесцвечивании красителя (bleaching). Так, полуторачасовое облучение растворов гиперицина ярким оранжевым светом (600 нм) вызывало падение поглощения света и интенсивности флуоресценции. Одновременно накапливались фотопродукты, флуоресцирующие в полосе 470–580 нм, что свидетельствовало о мягкой фототрансформации гиперицина, не фотодеструкции, а скорее фотоизомеризации [32].

При фототрансформации ФС могут появляться фотопродукты, также обладающие фотосенсибилизирующими свойствами. Так, фотодеградация гематопорфирина сопровождается снижением интенсивности флуоресценции и образованием фотопродуктов, поглощающих красный свет с максимумом около 640 нм, а также УФ-излучение. Последнее указывало на раскрытие порфиринового кольца. Авторы предположили, что фотопродукт 640 представляет собой хлориноподобные молекулы [33]. В работе [34] наблюдалось фотообесцвечивание красителя mTHPBC и накопление фотопродукта, который был идентифицирован как mTHPC – фотосенсибилизатор, широко применяющийся в ФДТ.

Фотообесцвечивание PpIX, образующегося в клетках и тканях из экзогенной ALA, происходит только в присутствии кислорода и, следовательно, является результатом прямого воздействия $^1O_2$. Оно сопровождается формированием ряда спектрально разделенных фотопродуктов с максимумами поглощения при 618, 655, 670 нм, которые также проявляют фотосенсибилизирующие свойства [35,36]. Предполагается, что фотодеградация производных гематопорфирина или PpIX происходит в ходе эпоксидизации двойных связей между кольцами и образования метинового мостика, в результате чего появляются стабильные фотопродукты типа билирубина и биливердина [37].

Фотостабильность фотосенсибилизаторов и фотодинамическая эффективность сильно зависят от их внутриклеточной локализации и микроокружения. Обычно гидрофильные ФС более фотостабильны в цитозоле, чем гидрофобные. В водной среде липофильные красители агрегируют, что препятствует их применению в качестве фотосенсибилизаторов. Агрегированные ФС в большинстве случаев теряют флуоресценцию и способность генерировать АФК. Липофильные и амфифильные ФС более стабильны внутри мембран, где они находятся в мономерном, а не агрегированном состоянии [38].

ЛИПИДЫ ИЛИ БЕЛКИ?

Существуют разные мнения относительно того, какая мишень, белки или мембранные липиды, важнее для фотодинамического повреждения клеток. Традиционно считается, что основную роль в фотодинамическом повреждении клеток играет повреждение биомембран [8]. В фотодинамических реакциях как первого, так и второго типов в мембранах могут образовываться гидроперекиси липидов. Они более полярны, чем исходные неокисленные вещества, и сдвигаются относительно неполярных липидных хвостов в сторону полярной наружной среды, чему способствуют изгибы жирнокислотных цепей. Это разрыхляет мембрану, повышает среднюю площадь, занимаемую одной липидной молекулой, и может приводить к фазовому расслоению мембраны, появлению в ней неоднородностей – липидных рафтов [39–41].

Не совсем ясны последствия перекисного окисления мембранных липидов в фотосенсибилизированных клетках. Предполагается, что цепное перекисное окисление липидов приводит к пермеабилизации мембраны, утечке ионов и метаболитов, остановке метаболизма и лизису клетки [8,42,43]. Но продукты реакций, ведущих к пермеабилизации биомембран, пока не идентифицированы. По недавним данным, образование гидроперекисей липидов не способствует утечке веществ через мембраны и потере химических градиентов. В эти процессы скорее вовлекаются укороченные формы окисленных липидов с альдегидными или карбоксильными группами, образующимися на их концах. Данные процессы связаны не столько с генерацией синглетного кислорода, сколько с прямыми реакциями фотодинамически индуцированных триплетных состояний фотосенсибилизаторов с гидроперекисными соединениями и двойными связями ненасыщенных липидов [39,44–46]. Продукты окисления липидов влияют на различные сигнальные процессы, регулирующие апоптоз [40,41,47].

Другие авторы считают, что более важную роль играет фотоповреждение белков [15,16]. Синглетный кислород может окислять SH-группы в белках, превращая их в сульфинаты, сульфонаты, дисульфиды и тиосульфинаты. Метионин превращается в S-оксид метионина. Из молекул тирозина и гистидина образуются эндопероксидные соединения, триптофан окисляется до N-формилкинуренина [16,48]. Фотоокисление аминокислот в белках может происходить как в водной среде цитозоля, так и в белках, встроенных в мембраны. В липидной фазе мембран концентрация кислорода в несколько раз

выше, чем в водной фазе. Мембранные белки могут окисляться как синглетным кислородом, образующимся при фотовозбуждении растворенных в мембранах гидрофобных фотосенсибилизаторов, так и радикальными продуктами фотодинамических реакций первого типа [58]. Тут важны не только способность тех или иных молекул подвергаться фотоиндуцированному окислению, но и близость их к источникам окислителей, т.е. к местам локализации ФС, способность ФС непосредственно связываться с теми или иными белками или липидами, а также роль данных структур в функционировании и выживании клеток. Так, процессы фотоповреждения цитозольных белков отличаются от повреждения белков, встроенных в биомембраны. Довод в пользу липидов о том, что большинство гидрофобных ФС накапливаются мембранах, а их фотодинамическая эффективность коррелирует с липофильностью [49,50], в ряде случаев не имеет принципиального значения. Даже небольшого количества ФС вблизи активного центра белка может быть достаточно для его инактивации и фатальных последствий для клетки. При этом более эффективны липофильные ФС, лучше связывающиеся с гидрофобным микроокружением активного центра. Например, бенгальский розовый в высокой концентрации ($n > 1$, где n – число молекул ФС на 1 молекулу белка) неспецифически связывается с бычьим сывороточным альбумином, а при малой концентрации ($n << 1$) – специфически связывается с гидрофобным карманом в этом белке. В первом случае агрегация молекул красителя приводит к тушению возбужденных состояний и предотвращает фотодинамическую генерацию $^1O_2$. Во втором случае генерируется $^1O_2$ и фотодинамический эффект осуществляется по II пути [51].

Имеется множество примеров, когда нарушение функций и смерть клетки связаны (но не всегда обусловлены) с фотоинактивацией различных клеточных белков. Так, окисление метионина синглетным кислородом инактивирует ионные каналы, кальмодулин и ряд гормонов. Окисление гистидина может отвечать за инактивацию высокопроницаемых митохондриальных пор, а окисление тиоловых групп, наоборот, индуцировать их проницаемость. Окисление триптофана и тирозина может приводить к инактивации каспаз [48]. Развитие фотодинамически индуцированного некроза нервных клеток, сенсибилизированных Фотосенсом, связано с фотоинактивацией сукцинатдегидрогеназы и нарушением структуры митохондрий [52]. Это же происходит и в неокрашенных клетках, подвергающихся действию синего света, за счет внутренней сенсибилизации эндогенными флавинами [53]. Другой пример – связь фотодинамически индуцированного апоптоза с фотоповреждением противоапоптотического белка Bcl-2 [54,55]. Но трудно доказать, что именно прямое фотодинамическое повреждение данного белка имеет фатальные последствия для клетки. Этот эффект может быть опосредован рядом промежуточных процессов.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ В КЛЕТКАХ

Фотодинамическая эффективность фотосенсибилизаторов в большой мере зависит от их внутриклеточной локализации. Гидрофильные ФС плохо диффундируют через липидные биомембраны. Они сорбируются на клеточной поверхности и больше сенсибилизируют плазматическую мембрану. Внутрь клетки они в основном попадают в результате пиноцитоза и оказываются на мембранах эндосом и лизосом. Так проникают анионные ФС, такие как моноаспартилхлорин e_6 или дисульфированный алюмофталоцианин $AlPcS_{2a}$ [56,57]. Положительно заряженные порфирины, фенотиазины, родамины, триарилметаны и цианины втягиваются в митохондрии благодаря отрицательному трансмембранному потенциалу последних. Там их концентрация может на два порядка превышать концентрацию в цитозоле [58–60]. Липофильные ФС, наоборот, локализуются в гидрофобных областях плазматической мембраны и мембранах внутриклеточных органелл. Но попав в мембрану, они не могут из нее выйти в водную среду. Поэтому распространение липофильных ФС в клетке также затруднено: они могут перемещаться скорее путем везикулярного транспорта, чем свободной диффузии. Наиболее эффективны амфифильные ФС с асимметричным расположением неполярных и заряженных групп. С помощью неполярной части они втягиваются в гидрофобные области мембраны, а полярные группы способствуют их выходу в водную среду. Таким способом они попадают внутрь клетки [3,15,61–63].

Так, сравнение ряда катионных амфифильных мезопорфиринов с симметричным (*транс*-изомеры) и асимметричным расположением положительно заряженных групп (*цис*-изомеры) показало, что их локализация в липосомах и митохондриях, а также эффективность фотодинамического действия на эритроциты пропорциональны липофильности (оцениваемой по логарифму коэффициента распределения с системе *n*-октанол/вода) и обратно пропорциональны

числу положительных зарядов [62]. По данным работы [64], *мезо*-тетрафенилпорфирин с асимметричным положением положительно заряженных групп проникает в клетку путем диффузии и локализуется в митохондриях, тогда как катионный ФС с симметричным расположением катионных групп попадает путем пиноцитоза в лизосомы. Последующее фотовоздействие может разрушить лизосомальную мембрану и высвободить краситель. На этом эффекте основан метод фотохимической интернализации, с помощью которого внутри клетки можно ввести токсины, белки или нуклеиновые кислоты [65].

Фотосенсибилизаторы, локализующиеся в митохондриях, особенно эффективно индуцируют апоптоз, поскольку повреждение митохондриальных мембран способствует высвобождению цитохрома *c* и других проапоптотических белков [3,66]. В случае фотосенсибилизаторов, попадающих в лизосомы, фотодинамическое воздействие может индуцировать как некроз, так и апоптоз в зависимости от интенсивности воздействия и того, какие протеолитические ферменты высвобождаются из фотоповрежденных органелл [67]. Фотоповреждение плазматической мембраны, где накапливаются фотосенсибилизаторы, обычно приводит к некрозу [3].

НАНОТРАНСПОРТЕРЫ ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРОВ

Основные проблемы при фотосенсибилизации опухолей связаны с доставкой фотосенсибилизатора к подлежащей лечению ткани. Более эффективны липофильные и амфифильные ФС, которые лучше проникают в клетки. Но при введении в кровоток они агрегируют в водной среде. Другая проблема – направленная, таргетная (от «target» – мишень) доставка ФС к определенным клеткам и внутриклеточным мишеням. Для предотвращения агрегации ФС используют различные носители – сывороточные белки, такие как сывороточные альбумины [68] или липопротеины низкой плотности [69], липосомы [70], наночастицы [71–74] и сложные мультибелковые комплексы [75–77]. Другой подход – синтез молекул с разветвленными боковыми группами, затрудняющими агрегацию [78].

В качестве нанотранспортеров используют металлические, керамические или полимерные наночастицы, неорганические оксиды, квантовые точки. На поверхности наночастиц с помощью ковалентных или нековалентных взаимодействий, а также пор определенного размера, в которых накапливаются молекулы, можно иммобилизовать большое количество молекул ФС. Поверхности наночастиц можно придать определенные физико-химические свойства – гидрофильность, гидрофобность или амфифильность, чтобы доставить их в определенные клеточные компартменты, мембраны или органеллы. Для направленной доставки к определенным тканям фотосенсибилизаторы или их носители связывают с лигандами, распознающимися рецепторами на поверхности клеток-мишеней. Наночастицы стабильны и защищают ФС от ферментативной деградации или микробной атаки. Они могут проникать глубоко в ткани через самые тонкие капилляры. При этом они не иммуногенны. Полимерные наночастицы можно сделать оптически прозрачными, не препятствующими фотоактивации ФС и биодеградирующими [71–74].

В качестве природных наночастиц используются сывороточные альбумины, хитозан, гиалуроновая кислота. Из синтетических полимеров используют гидрофильный полиакриламид, полигликолид, полилактид, поликапролактон, поливиниловый спирт, полиэтиленгликоль, сополимеры, такие как поли(лактид-гликолид), или их смеси [74]. Например, включение гидрофобного гиперицина в наночастицы поливинилового спирта придавало им водорастворимость и повышало эффективность их фотодинамического действия на нервные клетки [79]. С помощью полиакриламидных наночастиц, несущих на поверхности вещества-усилители контраста для магнитного резонанса (пептид RGD, распознающийся интегрином на поверхности эндотелия новообразованных опухолевых сосудов, и фотосенсибилизатор Фотофрин), можно было определять границы и рост опухоли методом магниторезонансного имиджинга. Последующее фотодинамическое воздействие вызывало некроз опухолевой ткани [80,81].

Неорганические наночастицы имеют сердцевину из окислов металлов или металлических композиций и органическую оболочку, которая стабилизирует частицу и составляет основу для присоединения разнообразных функциональных групп [74,82]. К их достоинствам относятся: большая площадь на единицу объема и, соответственно, большое количество связываемого ФС; высокое, почти 100% поглощение света; возможность придания магнитных свойств для активной транспортировки внутри организма; яркая флуоресценция (квантовые точки); возможность одновременного связывания лекарственных препаратов; простота изготовления. Конъюгаты фталоцианинов с золотыми наночастицами (AuNPs) продемонстрировали высо-

кую фотодинамическую эффективность [83]. Кроме фотодинамического воздействия, высокое поглощение световой энергии приводит к нагреванию и дополнительному термическому повреждению опухолевой ткани [73].

Примером недеградирующих керамических наночастиц могут служить силикагели с органическими модификациями (ORMOSIL) – покрытием полиэтиленгликолем, полиакриламидом и т.п. [72]. Такие нанотранспотеры ФС с контролируемыми параметрами – размером, формой и пористостью – просто синтезировать, они стабильны, устойчивы к флуктуациям температуры и pH, не подвергаются микробным атакам. На их поверхности легко иммобилизовать разнообразные функциональные группы, включая моноклональные антитела и лиганды для адресной доставки. В качестве лигандов часто используют фолаты, факторы роста, гормоны и другие биомолекулы, рецепторы которых находятся на поверхности раковых клеток [73]. Например, пористые кремниевые наночастицы с фолатами на поверхности эффективно доставляли PpIX к раковым клеткам, имеющим фолатные рецепторы. Они демонстрировали превосходные фотодинамические характеристики *in vitro* и *in vivo* [87].

В качестве нанотранспортеров также испытываются углеродные наноматериалы – фуллерен, нанотрубки, оксиды графена [85–87]. При лазерном фотовозбуждении (532 нм) фуллерены эффективно генерируют синглетный кислород, супероксид-анион и гидроксил-радикал [85]. Правда, их применение ограничивается полной водонерастворимостью. Но путем присоединения пирролидиновых групп их удалось сделать водорастворимыми [85,86]. В последние годы привлекли внимание графен и его производные. Оксид графена дешев, хорошо функционализируется, водорастворим и стабилен в биологических жидкостях. В работе [88] синтезированы конъюгаты оксида графена с фолатом, на которых адсорбировалось большое количество молекул хлорина e_6 за счет гидрофобных взаимодействий и π-π-стекинга. При взаимодействии этих комплексов с фолатными рецепторами на поверхности клеток они интернализовались и высвобождали хлорин e_6 в цитоплазму в результате изменения pH по мере превращения эндосом в лизосомы. Фотодинамическая эффективность такого комплекса была значительно выше, чем у свободного хлорина e_6.

Квантовые точки – сферические полупроводниковые наночастицы диаметром 2–10 нм, состоящие из нанокристаллов CdSe или CdS, окруженных оболочкой из ZnS, CdS или ZnSe, на которую наносят третий полимерный слой, придавая поверхности гидрофильные свойства и биосовместимость. К полимеру присоединяют фотосенсибилизатор и различные функциональные группы для адресной доставки. При фотовозбуждении полупроводника происходит резонансный перенос энергии на молекулы ФС с последующей генерацией $^1O_2$. Часть энергии расходуется в фотодинамических реакциях первого типа с образованием свободных радикалов. Квантовые точки поглощают свет в широком спектральном диапазоне, поэтому для их фотовозбуждения можно использовать свет вне спектра поглощения ФС [74,89].

Интересным новым направлением является разработка наночастиц для двухфотонной фотодинамической терапии [15,72,74,90]. Одно из ограничений ФДТ – небольшая глубина проникновения видимого света в ткани. Инфракрасный свет проникает заметно глубже. При достаточно высокой пиковой интенсивности излучения (более 10^6–10^8 Вт/см^2), которая достигается в случае ультракоротких пико- и фемтосекундных лазерных импульсов резко повышается вероятность двухфотонного возбуждения ФС, которое эквивалентно действию видимого света с вдвое меньшей длиной волны. При фокусировке лазерного луча этот эффект создается только в фокусе облучения, а на клетки вне фокуса однофотонное поглощение инфракрасного света практически не влияет. Например, в работе [90] продемонстрировано двухфотонное фотодинамическое воздействие инфракрасного излучения (780 нм) на клетки глиомы C6, окрашенные фотосенсибилизатором TMPyP, инкапсулированным в полиакриламидные наночастицы. Другой пример – использование водорастворимых конъюгатов бисимидазолилпорфиринов для двухфотонного фотодинамического повреждения клеток HeLa фемтосекундными импульсами инфракрасного света (780 нм). Оно вызывало локальное разрушение плазматической мембраны клеток, лежащих в фокальной плоскости, тогда как выше- и нижележащие клетки не повреждались [91].

Для направленной доставки фотосенсибилизаторов, таких как хлорин e_6 или бактериохлорин *p*, в ядра опухолевых клеток в лаборатории А.С. Соболева созданы модульные полипептидные нанотранспортеры, действующие на основе биологических принципов внутриклеточного транспорта. Они состояли из комплексов белка-носителя (сывороточного альбумина, бактериального гемоглобиноподобного белка, бактериальной β-глактозидазы, или другого полипептида) и лиганда, распознающегося поверхностными рецепторами и стимулирующего рецептор-опосредованный эндоцитоз

(EGF, инсулин, α-меланоцитостимулирующий гормон, фолат и т.п.). К этому комплексу присоединялись белки, способные растворять лизосомальные мембраны (дифтерийный токсин или белки аденовирусов), и пептидные сигналы ядерной локализации, способствующие переносу в ядро комплексов, высвобожденных из поврежденных лизосом. Эти нанотранспортеры на три порядка повышали фотодинамическую эффективность хлоринов [75–77].

КЛЕТОЧНЫЕ СЕНСОРЫ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

Как клетки реагируют на окислительное повреждение, и какие процессы ведут к клеточной смерти? Известны три основных механизма смерти клеток – апоптоз, аутофагия и некроз [92,93]. Все они регулируются сложной системой внутриклеточной сигнализации. Выбор клеткой одного из этих путей зависит от параметров воздействия (длины волны и интенсивности облучения, вида и концентрации ФС) и от типа клетки, ее функционально-биохимического состояния. Описанию сигнальных процессов, регулирующих реакции различных клеток на фотодинамическое воздействие посвящен ряд обстоятельных обзоров [3,48,94–97], поэтому они остаются за пределами настоящей статьи. Здесь мы кратко рассмотрим вопрос о возможных сенсорах синглетного кислорода и других АФК.

К окислительному повреждению чувствительны как ненасыщенные липиды, так и некоторые белки. Неспецифическими сигналами окислительного повреждения могут служить долгоживущие гидроперекиси липидов (LOOH) или их короткоживущие радикальные интермедиаты ($L^{\bullet}$, $LOO^{\bullet}$, $OLOO^{\bullet}$ или $OLO^{\bullet}$) [8]. Они могут перемещаться между внутриклеточными мембранами и так распространять цепь окислительных процессов на всю клетку [98]. При этом некоторые ненасыщенные липиды – арахидоновая кислота, диацилглицерол и церамид – являются вторыми мессенджерами, запускающими цепи сигнальных процессов. Однако в клетках есть ряд защитных механизмов, таких как липидные антиоксиданты и ферменты, осуществляющие детоксикацию АФК (глутатионпероксидаза, супероксиддисмутаза, каталаза). Только если их антиокислительная активность становится недостаточной для защиты клеток, запускаются сигнальные процессы, ведущие либо к дополнительной экспрессии антиоксидантных белков, либо, при более сильном повреждении, к клеточной смерти.

Некоторые редокс-чувствительные белки могут быть сенсорами АФК. Как отмечалось выше, белки с тиоловыми группами в активных центрах особенно чувствительны к окислительному повреждению. К их числу можно отнести тирозинфосфатазы [99], малые мономерные ГТФазы, такие как Ras [100], и митохондриальный переносчик адениновых нуклеотидов ANT [101,102]. Тирозинфосфатазы удаляют фосфатные группы с активированных белков. В их активном центре обычно есть высококонсервативный цистеин. Фотоинактивация тирозинфосфатаз продлевает существование фосфорилированных тирозинов и, соответственно, удлиняет активацию фосфорилированных ферментов [99]. В активном центре белка Ras, связывающего рецепторные тирозинкиназы с MAP-киназным каскадом, может окисляться цистеин 118, что влияет на обмен гуаниновых нуклеотидов, т.е. на его функциональную активность [100]. Белок ANT, который обменивает образующийся в митохондриях АТФ на цитозольный АДФ, участвует в формировании высокопроницаемых митохондриальных пор и последующем апоптозе. Фотодинамическое воздействие вызывало окисление его тиоловых групп. Этот белок оказался более чувствительным к фотодинамическому воздействию, чем другие митохондриальные белки [101–103].

Тиоредоксин – редокс-чувствительная дисульфидредуктаза – также может служить сенсором АФК. Восстановленный тиоредоксин образует неактивный комплекс с протеинкиназой ASK1 (apoptosis signal-regulating kinase-1). После окисления этот комплекс разрушается. Высвобождающаяся ASK1 активирует киназы MKK 3, 4, 6 и 7, которые фосфорилируют MAP киназы p38 и JNK, а те активируют факторы транскрипции CREB, ATF-2, c-Jun, и другие. Окисленный тиоредоксин активирует, а восстановленный ингибирует фактор транскрипции NF-κB [104]. NF-κB тоже может служить сенсором АФК. Он активируется синглетным кислородом, который стимулирует отделение его ингибиторной субъединицы IκB [99]. Есть предположение, что цинковые пальцы, обширных класс факторов транскрипции, в которых ион цинка удерживается цистеиновым тиолом и гистидиновым имидазолом, также могут быть прямой молекулярной мишенью для синглетного кислорода [48]. В последнее время показано, что широко распространенные белки TRPM2, образующие мультифункциональные Ca^{2+}-проницаемые катионные каналы, активируются АФК и могут являться сенсорами АФК. Они опосредуют повышение внутриклеточного уровня Ca^{2+} при окислительном стрессе [105]. Окисление простейшего пептида глутатиона (γ-глутамилцистеинилглицина), несущего SH-

группу, может приводить к образованию дисульфидных сшивок между ним и различными белками, включая различные протеинкиназы (PKA, PKC, PKD), протеинфосфатазы, а также факторы транскрипции (NF-κB) [48].

Внутриклеточные сенсоры кислорода, такие как фактор транскрипции HIF-1 (hypoxia-inducible transcription factor), могут регистрировать быстрое падение концентрации кислорода в фотосенсибилизированной клетке. Генерируемые в митохондриях АФК особенно эффективно активируют HIF-1. Состояние цистеиновых остатков, участвующих в редокс-регуляции HIF-1, регулируется тиоредоксином. Белок HIF-1 вместе с фактором транскрипции AP-1 контролирует клеточный метаболизм, пролиферацию и выживание [104,106].

Таким образом, в клетках нет какого-то специфического сенсора синглетного кислорода и других АФК. Вероятно, в нем нет нужды, так как различные клеточные белки являются редокс-чувствительными, и каждый из них может стимулировать внутриклеточные процессы, ведущие к защите или смерти клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Фотодинамическая терапия является успешным примером воплощения мечты П. Эрлиха о «магической пуле» – лекарстве, которое находит поврежденный орган и избирательно воздействует на него. Уже сейчас ФДТ нашла применение для лечения рака кожи, легких, пищевода, желудка, мочевого пузыря, а также возрастной макулярной дегенерации сетчатки. Проводятся испытания этого метода для лечения таких трудных патологий, как рак простаты, меланомы, глиобластомы и т.д. Однако для успешного ее применения необходимо решить множество физических, технических, химических, биохимических, цитологических, физиологических и медицинских проблем. К первым относятся понимание физических механизмов фотовозбуждения фотосенсибилизаторов, переноса энергии на биологические субстраты, взаимодействия света с оптически неоднородными биологическими тканями, проникновения в них светового излучения, рассеяния и поглощения различными клеточными компонентами. Отсюда следуют задачи дозиметрии, определения оптимальной дозы воздействия в каждом конкретном случае, разработки оптимальных излучателей и средств доставки излучения к пораженному органу, флуоресцентной диагностики опухолей. Химики совершенствуют фотосенсибилизаторы, стараются придать им необходимые физико-химические свойства. Биологи в опытах *in vitro* и *in vivo* изучают воздействие ФДТ на различные клеточные компоненты, выявляют регуляторные механизмы, управляющие реакциями клеток и приводящие либо к выживанию, либо к клеточной смерти. Фармакологи на основании биохимических данных подбирают фармакологические препараты, способные усилить поражение злокачественных клеток и при этом защитить нормальные ткани, а также исследуют фармакокинетику распределения фотосенсибилизаторов в организме, их накопление в разных тканях и выведение после лечения. Медики проводят клинические испытания и разрабатывают методики клинического применения ФДТ.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (грант № 790 на организацию научных исследований) и Российского научного фонда (грант № 14-15-00068).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A. P. Castano, T. N. Demidova, and M.R. Hamblin, Photodiagn. Photodyn. Ther. **1**, 279 (2004).
2. R. R. Allison, V. S. Bagnato, and C. H. Sibata, Future Oncol. **6**, 929 (2010).
3. А. Б. Узденский, *Клеточно-молекулярные механизмы фотодинамической терапии* (Наука, СПб, 2010).
4. С. В. Конев и И. Д. Волотовский, *Фотобиология* (Изд-во БГУ, Минск, 1974).
5. Ю. А.Владимиров и А. Я. Потапенко, *Физико-химические основы фотобиологических процессов* (Дрофа, М., 2008).
6. K. Huvaere, D. R. Cardoso, P. Homem-de-Mello, et al., J. Phys. Chem. B **114**, 5583 (2010).
7. G. Petroselli, M. L. Dбntola, F. M. Cabrerizo, et al., J. Am. Chem. Soc. **130**, 3001 (2008).
8. A. W. Girotti, J. Photochem. Photobiol. B **63,** 103 (2001).
9. Y. J. Suzuki, H. J. Forman, and A. Sevanian, Free Radic. Biol. Med. **22**, 269 (1996).
10. B. Halliwell and J. M. C. Gutteridge, *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed. (Oxford University Press, Oxford, UK, 2007).
11. M. Ochsner, J. Photochem. Photobiol. B. Biol. **39**, 1 (1997).
12. A. A. Krasnovsky, Membr. Cell Biol. **12**, 665 (1998).
13. А. А. Красновский, Биофизика **49**, 305 (2004).
14. J. Moan and P. Juzenas, J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. **25,** 29 (2006).
15. I. O. Bacellar, T. M. Tsubone, C. Pavani, et al., Int. J. Mol. Sci. **16,** 20523 (2015).
16. M. J. Davies, Biochem. Biophys. Res. Commun. **305**, 761 (2003).
17. J. Moan, K. Berg, Photochem. Photobiol. **53**, 549 (1991).

18. M. K. Kuimova, G. Yahioglu, P. R. Ogilby, J. Am. Chem. Soc. **131**, 332 (2009).
19. C. S. Oliveira, R. Turchiello, A. J. Kowaltowski, et al., Free Radic. Biol. Med. **51**, 824 (2011).
20. B. M. Aveline, in *Photodynamic therapy and fluorescence diagnosis in dermatology*, Ed. by P. Calzavara-Pinton, P. M. Szeimies, and B. Ortel (Elsevier, Amsterdam, 2001), pp. 17–37.
21. H. Ding, R. Mora, J. Gao, et al., Otolaryngol. Head Neck Surg. **145,** 612 (2011).
22. E. F. Silva, C. Serpa, J. M. Dabrowski, et al., Chemistry **16**, 9273 (2010).
23. T. M. Busch, Lasers Surg. Med. **38**, 494 (2006).
24. M. T. Jarvi, M. J. Niedre, M. S. Patterson, and B. C. Wilson, Photochem. Photobiol. **87,** 223 (2011).
25. M. A. Weston and M. S. Patterson. Photochem. Photobiol. **90,** 878 (2014).
26. A. Huygens, A. R. Kamuhabwa, A. van Laethem, et al., Int. J. Oncol. **26**, 1691 (2005).
27. H. S. de Bruijn, A. G. Casas, G. Di Venosa, et al., Photochem. Photobiol. Sci. **12**, 241 (2013).
28. X. Yang, P. Palasuberniam, D. Kraus, and B. Chen, Int. J. Mol. Sci. **16,** 25865 (2015).
29. S. K. Bisland, L. Lilge, A. Lin, et al., Photochem. Photobiol. **80**, 22 (2004).
30. G. Singh, O. Alqawi, and M. Espiritu, Methods Mol. Biol. **635**, 65 (2010).
31. H. W. Guo, L. T. Lin, P. H. Chen, et al., Photodiagn. Photodyn. Ther. **12**, 504 (2015).
32. A.B. Uzdensky, V. Iani, L.W. Ma, and J. Moan, Photochem. Photobiol. **76**, 320 (2002).
33. R. Rotomskis, S. Bagdonas, and G. Streckyte, J. Photochem. Photobiol. B. Biol. **33**, 61(1996).
34. H. P. Lassalle, L. Bezdetnaya, V. Iani, et al., Photochem. Photobiol. Sci. **3**, 999 (2004).
35. J. S. Dysart and M. S. Patterson, Photochem. Photobiol. Sci. **5,** 73 (2006).
36. L. Ma, S. Bagdonas, and J. Moan, J. Photochem. Photobiol. B **60**, 108 (2001).
37. M. Krieg and D. G. Whitten, J. Photochem. **25**, 235 (1984).
38. R. Sailer, W. S. Strauss, M. Wagner, et al., Photochem. Photobiol. Sci. **6**, 145 (2007).
39. G. Weber, T. Charitat, M. S. Baptista, et al., Soft Matter **10**, 4241 (2014).
40. C. Gajate, F. Gonzalez-Camacho, and F. Mollinedo, Biochem. Biophys. Res. Commun. **380**, 780 (2009).
41. C. K. Haluska, M. S. Baptista, A. U. Fernandes, et al., Biochim. Biophys. Acta Biomembr. **1818**, 666 (2012).
42. Ю. А. Владимиров, О. А. Азизова, А. И. Деев и др., *Свободные радикалы в живых системах* (ВИНИТИ, М.,1991).
43. Н. К. Зенков, В. З. Ланкин и Е. Б. Меньщикова, *Окислительный стресс* (МАИК «Наука/Интерпериодика», М., 2001).
44. K. A. Riske, T. P. Sudbrack, N. L. Archilha, et al., Biophys. J. **97**, 1362 (2009).
45. S. Ytzhak and B. Ehrenberg, Photochem. Photobiol. **90**, 796 (2014).
46. K. A. Runas and N. Malmstadt, Soft Matter **11**, 499 (2015).
47. M. Korbelik, J. Banбth, J. Sun, et al., Int. Immunopharmacol. **20**, 359 (2014).
48. L. O. Klotz, K. D. Krцncke, and H. Sies, Photochem. Photobiol. Sci. **2,** 88 (2003).
49. C. Pavani, Y. Iamamoto, and M. S. Baptista, Photochem. Photobiol. **88**, 774 (2012).
50. F. Ricchelli, J. Photochem. Photobiol. B Biol. **29**, 109 (1995).
51. M. B, Turbay, V, Rey, N. M. Argacaraz, et al., J. Photochem. Photobiol. B. Biol. **141,** 275 (2014).
52. A. Uzdensky, D. Bragin, M. Kolosov, et al., Photochem. Photobiol. **76**, 431 (2002).
53. A. B. Uzdensky, Proc. SPIE **1882**, 254 (1993).
54. D. Kessel and M. Castelli, Photochem. Photobiol. **74**, 318 (2001).
55. J. Usuda, K. Azizuddin, S. M. Chiu, and N. L. Oleinick, Photochem. Photobiol. **78,** 1 (2003).
56. W. G. Roberts and M. W. Berns, Lasers Surg. Med. **9**, 90 (1989).
57. K. W. Woodburn, N. J. Vardaxis, J. S. Hill, et al., Photochem. Photobiol. **54**, 725 (1991).
58. A. R. Oseroff, D. Ohuoha, G. Ara, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA **83**, 9729 (1986).
59. R. K. Kandela, J. A. Bartlett, and G. L. Indig, Photochem. Photobiol. Sci. **1**, 309 (2002).
60. T. J. Jensen, M. G. H. Vicente, R. Luguya, et al., J. Photochem. Photobiol. B **100**, 100 (2010).
61. A. B. Uzdensky, L.W. Ma, V. Iani, et al., Laser Med. Sci. **16**, 276 (2001).
62. F. M. Engelmann, I. Mayer, D. S. Gabrielli, et al., J. Bioenerg. Biomembr. **39,** 175 (2007).
63. R. Ezzeddine, A. Al-Banaw, A. Tovmasyan, et al., J. Biol. Chem. **288**, 36579 (2013).
64. D. Kessel, R. Luguya, and M. G. H. Vicente, Photochem. Photobiol. **78**, 431 (2003).
65. O.J. Norum, P.K. Selbo, A. Weyergang, et al., J. Photochem. Photobiol. B **96**, 83 (2009).
66. D. Kessel and Y. Luo, Cell Death Differ. **6**, 28 (1999).
67. D. Kessel, Y. Luo, P. Mathieu, and J. J. Reiners, Photochem Photobiol. **71**, 196 (2000).
68. M. Korbelik and J. Hung, Photochem. Photobiol. **53**, 501 (1991).
69. P. Mukherjee, R. Adhikary, M. Halder, et al., Photochem. Photobiol. **84,** 706 (2008).
70. J. Kim, O. A. Santos, and J. H. Park, J. Control Release **191**, 98 (2014).
71. R. A. Craig, C. P. McCoy, S. P. Gorman, and D. S. Jones, Expert Opin. Drug Deliv. **12**, 85 (2015).
72. D. Bechet, P. Couleaud, C. Frochot, et al., Trends Biotechnol. **26**, 612 (2008).
73. Y. Cheng, T. L. Doane, C. H. Chuang, et al., Small **10**, 1799 (2014).

74. T. A. Debele, S. Peng, and H.-C. Tsai, Int. J. Mol. Sci. **16**, 22094 (2015).

75. А. С. Соболев, А. А. Розенкранц и В. П. Гилязова, Биофизика **49**, 337 (2004).

76. T. A. Slastnikova, A. A. Rosenkranz, P. V. Gulak, et al., Int. J. Nanomedicine **7**, 467 (2012).

77. T. A. Slastnikova, A. A. Rosenkranz, M. R. Zalutsky, and A. S. Sobolev, Curr. Pharm. Des. **21,** 1227 (2015).

78. F. A. B. Dos Santos, A. F. Uchoa, M. S. Baptista, et al., Dyes Pigment **99**, 402 (2013).

79. A. B. Uzdensky, D. E. Bragin, M. S. Kolosov, et al., J. Photochem. Photobiol. B **72** 27 (2003).

80. Y. E. Koo, W. Fan, H. Hah, et al., Appl. Opt. **46**, 1924 (2007).

81. Y. E. Koo, G. R. Reddy, M. Bhojani, et al., Adv. Drug Deliv. Rev. **58,** 1556 (2006

82. L. Zhang, Y. Li, and J. C. Yu, J. Mater. Chem. B **2**, 452 (2014).

83. M. E. Wieder, D. C. Hone, M. J. Cook, et al., Photochem. Photobiol. Sci. **5**, 727 (2006).

84. I. T. Teng, Y. J. Chang, L. S. Wang, et al., Biomaterials **34**, 7462 (2013).

85. P. Mroz, A. Pawlak, M. Satti, et al., Free Radic. Biol. Med. **43**, 711 (2007).

86. Z. Markovic and V. Trajkovic, Biomaterials **29**, 3561 (2008).

87. S. Erbas, A. Gorgulu, M. Kocakusakogullari, and E. U. Akkaya, Chem. Commun. **33**, 4956 (2009).

88. P. Huang, C. Xu, J. Lin, et al., Theranostics **1**, 240 (2011).

89. P. Juzenas, W. Chen, Y. P. Sun, et al., Adv. Drug Deliv. Rev. **60**, 1600 (2008).

90. R. R. De Gao, H. X. Agayan, A. P. Martin, and R. Kopelman, Nano Lett. **6,** 2383 (2006).

91. K. Ogawa and Y. Kobuke, Biomed. Res. Int. Article ID 125658 (2013).

92. G. Kroemer, L. Galluzzi, P. Vandenabeele, et al., Cell Death Differ. **16,** 3 (2009).

93. L. Galluzzi, I. Vitale, J. M. Abrams, et al., Cell Death Differ. **19,** 107 (2012).

94. R. D. Almeida, B. J. Manadas, A. P. Carvalho, et al., Biochim. Biophys. Acta **1704**, 59 (2004).

95. A. P. Castano, T. N. Demidova, and M. R. Hamblin, Photodiagn. Photodyn. Ther. **2**, 1 (2005).

96. E. Buytaert, M. Dewaele, and P. Agostinis, Biochim. Biophys. Acta **1776**, 86 (2007).

97. A. B. Uzdensky, Curr. Signal Transduction Ther. **3,** 55 (2008).

98. A. W. Girotti and T. Kriska, Antioxid. Redox Signal **6,** 301 (2004).

99. S. P. Gabbita, K. A. Robinson, C. A. Stewart, et al., Arch. Biochem. Biophys. **376,** 1 (2000).

100. T. Finkel, Curr. Opin. Cell Biol. **10**, 248 (1998).

101. A. Atlante, S. Pasarella, S. Quagliariello, et al., J. Photochem. Photobiol. B. Biol. **4,** 35 (1989).

102. C. Salet and G. Moreno, Trends Photochem. Photobiol. **3**, 169 (1994).

103. A. Atlante, S. Pasarella, S. Quagliariello, et al., J. Photochem. Photobiol. B. Biol. **7**, 21 (1990).

104. К. Т. Турпаев, Биохимия **67**, 281 (2002).

105. X. Ru and X. Yao, Acta Physiol. Sinica **66**, 7 (2014).

106. G. L. Semenza, Cell **107**, 1 (2001).

Biophysical Aspects of Photodynamic Therapy

A.B. Uzdensky

Academy of Biology and Biotechnology, Southern Federal University, prosp. Stachky 194/1, Rostov-on-Don, 344090 Russia

The photodynamic effect, photodamage of stained cells in the presence of oxygen, is used for destruction of tumor and other abnormal cells. The present review considers the biophysical mechanisms of photodynamic action on cells. The importance of two main mechanisms of photodynamic cell damage is discussed. The first one is mediated by the transfer of electrons or protons, whereas the second one involves singlet oxygen. Another question concerns the comparative importance of the oxidation of membrane lipids or proteins for the photodynamic cell damage. Phototransformation of photosensitizers, their intracellular localization and delivery to the cells and tissues which have undergone abnormal changes are discussed. The current data on photosensitizer nanotransporters are present. The potential sensors of reactive oxygen species in the cells are considered.

Key words: photodynamic effect, photosensitizer, biophysics