**Липосомы в медицине**

**Г. Кобринский, доктор медицинских наук**

Липосомы, или липидные пузырьки, известны давно, да и знакомы, наверно, каждому: очень похожи на них те капельки жира, которые попадают в воду, но это, разумеется, сходство чисто внешнее. Конечно, те, о которых пойдет речь, очень малы – много меньше клетки, и жир в них не пищевой, а клеточный – липиды, входящие в состав всех клеток организма. Липосомы представляют собой замкнутые пузырьки воды, окруженные одним или несколькими слоями липидов. Размеры и форма липосом зависят от многих факторов: кислотности среды, присутствия солей и т.п. Впервые на них обратил внимание английский исследователь Алек Бангем с коллегами в 1965 году. Они заметили, что липосомы (это название утвердилось года три спустя) весьма напоминают мембраны клеток. В те годы уже было известно, что клеточные мембраны выполняют много функций, и липосомы сразу же стали важным инструментом для их изучения. Как модели мембран, липосомы позволили исследовать ряд их свойств: электрическое сопротивление, проницаемость для молекул воды, для ионов и других заряженных частиц, а также для содержимого клеток. Липосомы используются, кроме того, для изучения действия на мембраны витаминов, гормонов, антибиотиков и других препаратов. Эта сторона дела привлекла наибольшее внимание исследователей, поскольку выяснилось, что липосомы хорошо справляются с ролью носителей лекарств. Ей и посвящена предлагаемая читателям статья.

Известно, что заболевания поражают не весь организм, а развиваются в отдельных органах и тканях. Так, например, при раке главные события происходят в месте расположения опухоли, при инфаркте миокарда – в мышце сердца, при дизентерии – в кишечнике. Поэтому и лечение пойдет быстрее и успешнее, если лекарства будут действовать непосредственно в очаге заболевания. Особенно это важно в тех случаях, когда приходится иметь дело с весьма ядовитыми препаратами, которые хорошо лечат саму болезнь, но при этом плохо влияют на другие системы организма. Часто это заставляет отказываться от использования подобных веществ и применять менее эффективные.

Однако создать нужную концентрацию лекарственных веществ в пораженных болезнью местах, не затрагивая остальные, – задача непростая. Ведь медикаменты, каким бы способом их ни вводили, расходятся по всему организму более или менее равномерно. А чтобы они попали в нужные места, сделали вывод медики, необходим какой-то носитель, который бы мог их туда доставить. За последние несколько лет было предпринято много попыток для решения этой проблемы, перепробовано множество соединений, и оказалось, что лучшими носителями лекарств являются липосомы.

Липосомы могут быть однослойными (диаметр 250...300 ангстрем) и многослойными (5...50 микрометров). Заштрихованные тоны – место нахождения воды, светлые – бимолекулярный липидный слой, «хвосты» составляющих его молекул обращены внутрь слоя.

Какие же качества липосом дают им преимущества перед другими носителями лекарств? Прежде всего, это сродство с природными мембранами клеток по химическому составу. Известно, что липиды, входящие в состав мембран, занимают от 20 до 80 процентов их массы. Поэтому при правильном подборе компонентов липосом их введение в организм не вызывает негативных реакций.

Второе важное свойство липосом – это универсальность. Благодаря полусинтетической природе можно широко варьировать их размеры, характеристики, состав поверхности. Это позволяет поручать липосомам переносить широкий круг фармакологически активных веществ: противоопухолевые и противомикробные препараты, гормоны, ферменты, вакцины, а также дополнительные источники энергии для клетки, генетический материал.

В-третьих, липосомы сравнительно легко разрушаются в организме, высвобождая доставленные вещества, но в пути следования липосомы, сами лишенные свойств антигена, надежно укрывают и свой груз от контакта с иммунной системой и, стало быть, не вызывают защитных и аллергических реакций организма.

Важную роль играет также характер взаимодействия липосом с клетками. Оно может принимать разные формы: самая простая – липосомы адсорбируются (прикрепляются) на клеточной поверхности. Дело может на этом закончиться, а может пойти дальше: липосому поглотит клетка (этот процесс «заглатывания» называется эндоцитоз), и вместе с ней внутрь клетки попадут те вещества, которые она доставила. Наконец, липосомы могут слиться с мембранами клеток и стать их частью. При этом могут изменяться свойства клеточных мембран: например, их вязкость и проницаемость, величина электрического заряда. Может также увеличиться или уменьшиться количество каналов, проходящих через мембраны. Таким образом, благодаря липосомам появляется новый способ направленного воздействия на клетку, который можно назвать «мембранной инженерией».

Формы взаимодействия липосом с мембраной клетки: липосома может увеличить проницаемость мембраны – вызвать образование дополнительных каналов (I); может прикрепиться к мембране – адсорбироваться (II); важная форма взаимодействия – поглощение липосомы клеткой, в этом случае вещество, принесенное липосомой, попадает непосредственно в клетку (III); иногда клеточная мембрана и липосома обмениваются липидами (IV), а в других случаях мембраны липосомы и клетки сливаются (V).

Как носители лекарств липосомы наиболее широкое применение получили в экспериментальной онкологии. Суть в том, что существует ряд препаратов, весьма эффективно разрушающих злокачественные клетки или тормозящих их рост. Однако применить их в терапевтических целях не всегда возможно из-за их большой токсичности или плохой растворимости в воде. С помощью липосом эти трудности можно преодолеть. Так, в одной лаборатории с помощью липосом вводили мышам, больным лейкемией, нерастворяющиеся препараты и наблюдали замедление роста числа злокачественных клеток. Другие исследователи нагружали липосомы антрациклинами: эти вещества активны против широкого круга злокачественных опухолей, но весьма ядовиты для остальных тканей, особенно для сердечной мышцы, – и вредное воздействие этих соединений значительно снижалось, что, как следствие, позволяло существенно увеличивать их дозы.

Липосомы можно использовать и для борьбы с инфекционными заболеваниями. Весьма показательными в этом плане могут служить экспериментальные данные по лечению лейшманиоза – заболевания, широко распространенного в южных странах, где различными его формами страдает около 100 миллионов человек. Болезнь поражает печень, селезенку, костный мозг.

Обычный лейшманиоз лечат препаратами сурьмы, которые весьма токсичны. Но когда их ввели экспериментальным животным с помощью липосом, то они стали подавлять размножение возбудителей болезни в клетках печени в сотни раз эффективнее, чем обычно, а токсическое действие на сердце и почки заметно снизилось, что позволило увеличить дозу препарата. Сходные результаты были получены и при лечении похожих на лейшманиоз грибковых заболеваний – криптококкоза и гистоплазмоза.

Когда микроорганизмы – возбудители болезней «прячутся» внутри клеток, то тем самым они защищаются как от иммунной системы организма (антител), так и от действия лекарств. Бывает, что макрофаги, захватив болезнетворные бактерии, не могут их переварить. Во всех таких случаях заболевание приобретает затяжное, хроническое течение, и тогда необходимо, чтобы лечебные средства могли проникать внутрь зараженных клеток, причем в нужной для лечения концентрации. Результаты экспериментов группы американских исследователей, которые работали с макрофагами мышей, зараженных бактериями мышиного брюшного тифа, показали, что липосомы и здесь значительно повышают эффективность лечения: они доставляли макрофагам антибиотик цефалотин, и число бактерий внутри клеток снизилось намного сильнее, чем при обработке таких же клеток чистым антибиотиком. При этом удавалось достичь весьма высокой его концентрации внутри клеток, то есть именно там, где находились возбудители заболевания.

Другие исследователи, используя антибиотик гентамицин, заключенный в липосомы, получили такие же результаты против возбудителей бруцеллеза, причем опыты были проведены как на культуре клеток, так и на животных – морских свинках.

Таким образом, липосомы помогают дольше сохранять высокий уровень концентрации лекарственных препаратов в крови и в клетках, а также помогают им проникнуть в те области, куда без липосом они попасть не могут.

Формы взаимодействия липосом с клетками, о которых мы говорили вначале, во многом объясняют их способность преодолевать некоторые анатомические барьеры организма, в частности, стенки желудочно-кишечного тракта, Это обстоятельство ученые попытались использовать для лечения сахарного диабета, то есть попробовали вводить инсулин в липосомах через рот. Дело в том, что инсулин больным дают с помощью уколов, что, конечно, и неприятно, и неудобно. В таблетках же инсулин неэффективен, ибо разрушается в желудочно-кишечном тракте раньше, чем попадает «к месту работы» – в кровь. Не выручат ли тут липосомы?

Опыты проводились на крысах, у которых предварительно искусственным путем вызывали сахарный диабет, И оказалось, что введение инсулина в липосомах вызывало снижение сахара в крови животных, ибо липосомы защищают этот гормон от разрушения желудочно-кишечном тракте. В настоящее время исследования в этом направлении продолжаются. Цель их – добиться возможности лечения диабета введением инсулина через рот, что будет большим подарком для больных этой тяжелой болезнью.

В дальнейшем были предприняты попытки введения таким методом и других веществ. Они не всегда оказывались удачны, однако некоторых случаях был достигнут несомненный успех. Так, в опытах на животных удавалось ввести в липосомах через желудочно-кишечный тракт активаторы выработки интерферона, разрушающий тромбы террилитин, витамин К и другие вещества. Такой путь введения в организм ряда лекарств является весьма перспективным, особенно в тех случаях, когда их инъекции менее желательны или вообще невозможны. Но пока еще не совсем понятно, почему одни вещества, заключенные в липосомы, проходят сквозь стенку кишечника, а другие этого сделать не могут. Механизм этого явления в настоящее время изучается.

Использование липосом для точной, целенаправленной доставки лекарственных веществ имеет, однако, и определенные ограничения. Дело в том, что после попадания в организм большая часть липосом поглощается клетками ретикулоэндотелиальной системы, состоящей в основном из макрофагов, способных поглощать из крови посторонние частицы и уничтожать (переваривать) их, что необходимо для поддержания постоянства внутренней среды. Наибольшее скопление этих клеток находится в печени, селезенке, костном мозге, лимфатических узлах и кровотоке. Поэтому, если цель введения липосом заключается в их контакте с клетками ретикулоэндотелиальной системы, то проблем почти не возникает: липосомы туда попадут (возбудители инфекционных заболеваний, о лечении которых мы говорили выше, находились именно в таких клетках). Если же требуется, чтобы липосомы доставили свое содержимое в другие места, то добиться этого сложнее.

Однако исследования, проведенные в последние годы, позволяют надеяться, что и это препятствие в принципе можно обойти. Так, был поставлен следующий эксперимент. Лечили опухоли мышей, локализованные в правой задней лапке животных. Для того чтобы липосомы, содержавшие противоопухолевое лекарство, не были захвачены макрофагами, последние решено было блокировать: животным ввели сначала пустые липосомы, а через час – липосомы, содержавшие радиоактивный индий. И оказалось, что его концентрация в клетках опухоли возросла на 50 процентов по сравнению с контрольными животными, которым блокады не проводили.

Во Всесоюзном кардиологическом научном центре, в лаборатории В.П. Торчилина осуществили направленный транспорт липосом в зону экспериментального инфаркта миокарда. Сделали это с помощью антител к миозину – белку сердечной мышцы, они были прикреплены химически к поверхности липосом. Липосомы накапливались как в зоне инфаркта, так и в нормальной ткани сердца (то есть там, где был миозин), хотя значительная их часть все же локализовалась в клетках печени.

Выявлено также, что весьма эффективно введение липосом прямо в кровь, скажем, через вену. При этом в печень и селезенку попадает липосом во много раз больше, чем при введении их через брюшину и особенно под кожу.

Таким образом, комбинируя способы введения, можно надеяться на успешное лечение с помощью липосом и тех заболеваний, которые мало связаны с клетками ретикулоэндотелиальной системы.

Липосомы, попадая в кровоток, как правило, становятся добычей макрофагов и не доходят до цели. Но если они соединены с антителами к белкам-адресатам, то большая их часть успевает прибыть в место назначения раньше, чем произойдет встреча с макрофагом. Еще лучше результаты будут, если вперед пустить липосомы без груза, а следом – с лекарством, тогда первые попадутся макрофагам, а вторые без помех дойдут до цели.

Исследования последних лет установили, что система макрофагов играет важную роль в защите организма от различных инфекций и новообразований (опухолей). Макрофаги способны уничтожать как опухолевые клетки, так и клетки, пораженные вирусами, не затрагивая при этом нормальные, здоровые клетки. Но делают все это макрофаги лишь в активированном состоянии. А активируют их лимфоциты, которые выделяют для этого специальные вещества – лимфокины.

Помимо лимфокинов макрофаги могут быть активированы и другими веществами, в частности микобактериями, к которым принадлежат и бациллы туберкулеза. Давно известно, что эти микроорганизмы в смеси с антигенами способны усиливать иммунный ответ. Основываясь на этом свойстве, были приготовлены препараты, усиливающие иммунный ответ и получившие название адъювантов. Действующим началом адъювантных свойств микобактерий оказалось вещество пептидной природы, так называемый мурамилдипептид. Он так же, как и лимфокины, обнаружил способность активировать макрофаги.

Ученые попытались использовать эти вещества для лечения опухолей и инфекционных заболеваний. Однако их эффективность оказалась невысокой, поскольку они всего на 1...2 часа задерживаются в организме. Результаты были лучше, если активаторы вводили часто и в больших дозах. Однако при этом проявлялись нежелательные побочные воздействия на организм, а, кроме того препаратов нужно было слишком много.

Резкий сдвиг к лучшему наметился в 1981 году, когда было установлено, что способность лимфокинов и мурамилдипептида активировать макрофаги значительно возрастает, если эти вещества вводить в липосомах. При этом наблюдается увеличение длительности их действия, иногда до нескольких суток. Важно и то, что удается во много раз снизить их дозы без ущерба для эффективности. Интересно отметить, что оба препарата, заключенные в одни и те же липосомы, при активации усиливали действие друг друга.

Мурамилпептид в липосомах оказался также весьма эффективным против вируса герпеса, а в сочетании с таким препаратом, как глюкантин, – и против уже упоминавшегося лейшманиоза.

Эффективность использования липосом как носителей лекарств во многом зависит еще и от того, сумеют ли они сохранить свою целостность после введения в организм. Дело в том, что у липосом имеется весьма серьезный «враг» – сыворотка крови. В ее состав входят липопротеины – сложные белки, содержащие липиды. Обмениваясь с липосомами липидами, липопротеины способствуют разрушению липосом и вытеканию наружу их содержимого. Однако уже сейчас найдены способы, позволяющие увеличить устойчивость липосом к действию липопротеинов. Например, этому помогает введение в состав липосом холестерина. Есть и другие варианты изменения состава липосом, позволяющие им успешно защищаться от разрушения сывороткой крови.

Таким образом, в практическом использовании липосом открываются неплохие перспективы. Кроме медицины, они могут быть полезны в сельском хозяйстве, уже сейчас они находят применение в генной инженерии: с их помощью можно более эффективно, чем обычным путем, вводить генетическую информацию внутрь клеток.

Конечно, не следует думать, что широкие клинические испытания липосом можно начать уже сегодня. Для этого следует решить еще ряд проблем. Одной из них является способ введения липосом. Так, вряд ли следует рекомендовать внутривенное, хотя и весьма эффективное, их введение, ибо существует некоторая опасность закупорки сосудов (эмболии). Меньше опасений вызывают внутримышечное и подкожное их введения, и особенно – через рот, так как из сказанного выше понятно, что в ряде случаев липосомы с заключенными в них веществами способны проходить через стенки желудочно-кишечного тракта. Такой способ введения липосом в организм, по-видимому, безвреден.

Серьезную проблему представляет стерилизация липосом. Пока что наиболее приемлемым способом следует считать стерилизацию липосом с помощью таких фильтров, поры которых пропускают только молекулы липидов и задерживают микроорганизмы.

Весьма существенны также сроки хранения липосом после их приготовления. Пока они невелики. Но, видимо, и эта проблема вскоре будет решена, так как недавно найден способ сушки предварительно замороженных липосом. Такие высушенные липосомы, содержащие лекарственные вещества, способны храниться достаточно долго: месяцы и годы. Для их использования достаточно прилить к ним тот объем воды, который был удален при сушке.