

ланд (Паттайа), 20-28 февраля 2008 г. Поступила в редакцию 26.12.2007.

**РАЗРАБОТКА СПОСОБА
ФОТОДИНАМИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ДЛЯ
ЛЕЧЕНИЯ НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ
НОВООБРАЗОВАНИЙ С
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ФОТОСЕНСИБИЛИЗАТОРА НА ОСНОВЕ
ПРЕПАРАТА КОПРОПОРФИРИН**

Малков М.А., Петрищев Н.Н., Мишуткин С.Н.
Санкт-Петербург, Россия

ФДТ – современный метод органосохраняющего лечения онкологических и ряда неопухлевых заболеваний человека. Фотодинамическая терапия новообразований опухолевой и неопухелевой природы может быть применена в тех многих случаях, где хирургия, лучевая, химиотерапия и другие методы противопоказаны. Процедура может быть проведена амбулаторно и множество раз, при этом происходит селективное разрушение больной ткани без повреждения здоровой.

Необходимо отметить перспективность неонкологического применения ФДТ, обусловленную тем, что традиционные методы лечения постепенно теряют свою эффективность. Мультирезистентность возбудителей инфекционных заболеваний, их устойчивость к антибактериальным препаратам и, как следствие, рост тяжести инфекционных заболеваний отмечаются во всех странах мира. Общее техногенное снижение иммунологической резистентности, истощение генофонда и ухудшение среды обитания (качества жизни) делает течение давно известных заболеваний все более тяжелыми. Новые мощные анти-

бактериальные препараты только ускоряют процесс развития устойчивости возбудителей. В такой ситуации необходимы принципиально новые подходы к лечению различных заболеваний, в том числе инфекционных, и одним из таких перспективных направлений развития медицинской науки является антимикробная ФДТ.

В проблеме ФДТ решающее значение имеет выбор оптимального сочетания фотосенсибилизатор – лазер, способного обеспечить наиболее эффективное практическое использование этого метода. Один из современных фотосенсибилизаторов, предназначенных для лечения онкологических больных, копропорфинин III обладает практически всеми свойствами оптимального фотосенсибилизатора. Препарат имеет высокую фотоактивность, высокостабилен, имеет низкую фототоксичность, выводится из организма через 2-3 часа. Спектр липосомальных лекарственных форм препарата включает инъекционную, пероральную и мазевую формы, для его изготовления используется дешевое отечественное сырье. Препарат не имеет зарубежных и отечественных аналогов. Копропорфинин может использоваться для лечения гнойных ран и трофических язв, для лечения артрозов и артритов, противоопухолевой профилактики, фотодинамической терапии инфекционных заболеваний.

Копропорфинин получают биотехнологическим путем при культивировании штамма из рода *Arthrobacter* при температуре 34⁰ С на среде, содержащей гидролизат белка, отдельные аминокислоты, глюкозу и соли.

Длительность культивирования – 10 суток. Содержание порфиринов к концу ферментации составляет 350-400 мкг/мл.

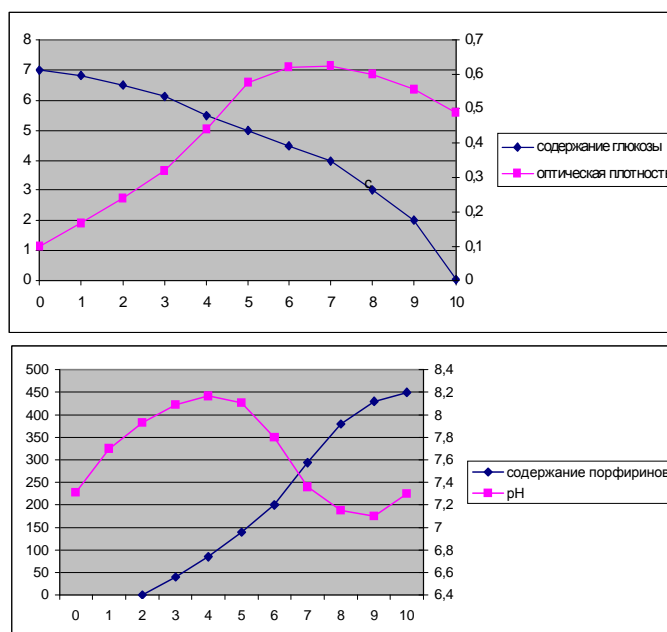


Рис. 1. Биохимические изменения в культуральной жидкости

Как видно из рис. 1, в начальный период ферментации наблюдается интенсивный рост культуры и увеличение биомассы. Следует отметить, что синтез порфиринов начинается лишь при достижении определенной клеточной плотности и концентрации клеточных метаболитов, то есть порфирин является типичным «вторичным» метаболитом. При достижении максимальной скорости порфиринообразования pH культуральной жидкости начинает возрастать и поддержание pH на уровне 7,0 не приводит к увеличению содержания порфиринов. Штамм не подвержен катаболитной репрессии, культура сама регулирует скорость потребления глюкозы на уровне 1% в сутки. Установлено также, что синтез копропорфина происходит в строго ограниченных условиях поступления кислорода, что, вероятно, связано с высокой чувствительностью к кислороду синтетазы аминоклевуленовой кислоты

(АЛК-синтетазы) – предшественника синтеза копропорфина.

Технология выделения и очистки (рис.2) основана на использовании бесфильтрационного метода, то есть культуральная жидкость подкисляется соляной кислотой до pH 2,0 и вместе с биомассой подается на колонну с сорбентом. Процесс сорбции осуществляется в пульсирующем режиме. Полученный после десорбции элюат подкисляют до pH 3,5 и копропорфин выпадает в осадок.

Далее проводится хроматографическая очистка растворенного продукта и дальнейшее осаждение. Для получения продукта с чистотой 90-95 % проводят вторичную хроматографическую очистку.

Получение водорастворимой тетракалиевой соли копропорфина достигается путем растворения готового продукта в KOH (гидроксид калия) и последующей сушкой.

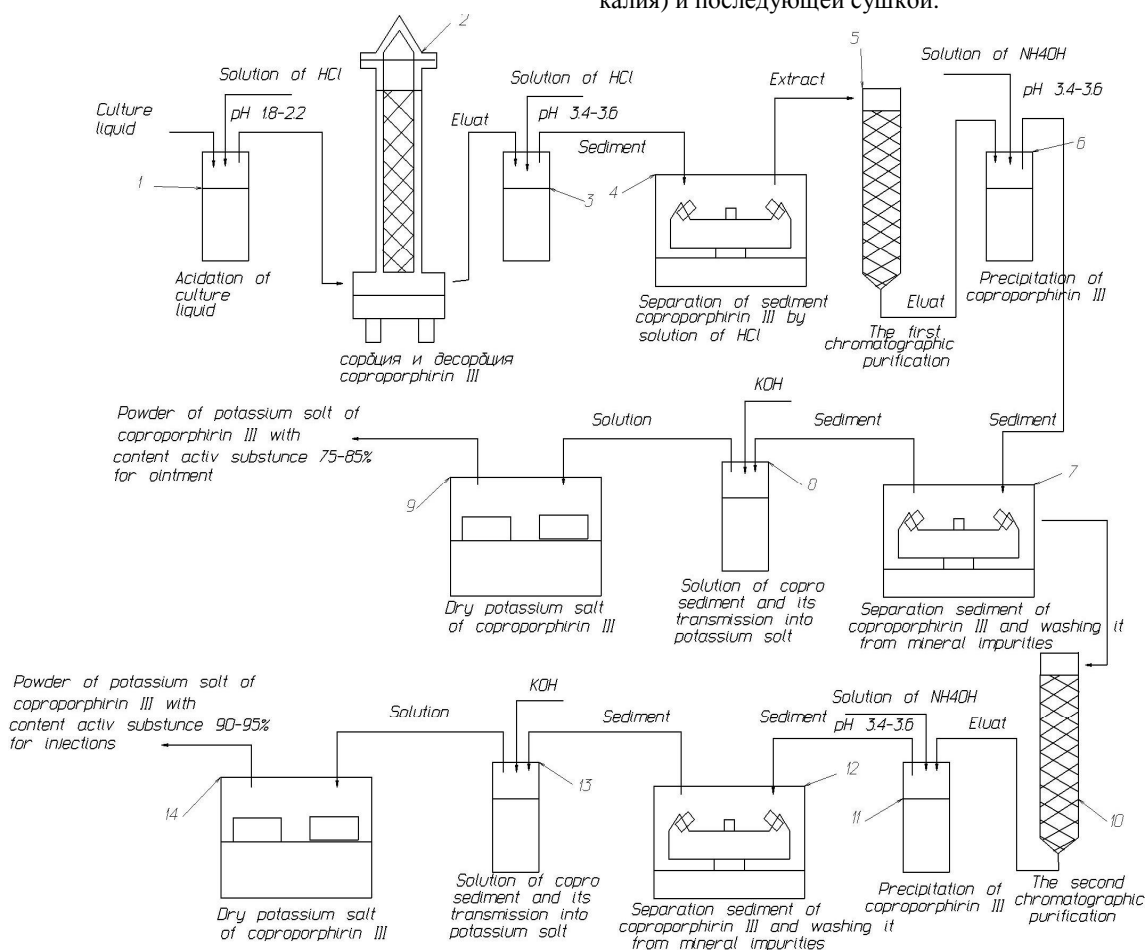


Рис. 2. Схема выделения копропорфина III

Полученный по описанной технологии фотосенсибилизатор является единственным, получаемым биотехнологическим путем. Многоступенчатая схема получения гематопорфина из крови быков не гарантирует отсутствия вируса «коровьего бешенства», а фотосенсибилизаторы,

получаемые при культивировании водорослей, имеют не всегда стандартный компонентный состав и имеют достаточно высокую фототоксичность. Копропорфин –III – наименее токсичный препарат, LD 50 при внутривенном введении составляет 400 мг/кг веса.

Копропорфирин имеет 2 лекарственных формы – в виде 0,4 % раствора для инъекций и в виде мази для наружного применения. Лекарственные формы могут применяться отдельно и сочетанно.

В связи с прогрессирующим ростом заболеваний рака кожи перспективным является применение фотосенсибилизатора в форме мази, поскольку определяющим фактором является эффект проникновения препарата.

В настоящее время нами разрабатывается рецептура мази с использованием липосомальных форм копропорфирина и β -каротина, полученных по специальной технологии.

Опыты на собаках показали, что применение 0,5 % мази копропорфирина –III с последующим облучением лазером курсом 5 обработок с интервалом 3 суток, хорошо переносится жи-

вотными, не вызывает побочных эффектов, значимо не влияет на нормальные показатели крови.

Локализация опухолевого процесса, уменьшение в размерах опухолевой ткани, очищение раны и уменьшение воспалительного процесса в ткани опухоли и окружающих тканях наблюдалось в той или иной мере во всех случаях применения ФДТ по вышеописанной схеме.

По степени свечения копропорфирина в ультрафиолете можно судить о реальных размерах опухолевого процесса что несомненно является важнейшим диагностическим фактором, позволяющем не только определить наличие онкологического поражения, но и выявить его истинные размеры.

На рис. 3 показан эффект применения мази копропорфирина при множественном папилломатозе у собаки. После 3 сеансов обработки в сочетании с лазером папилломатоз исчез.



Рис. 3. Эффект применения мази копропорфирина при множественном папилломатозе у собаки

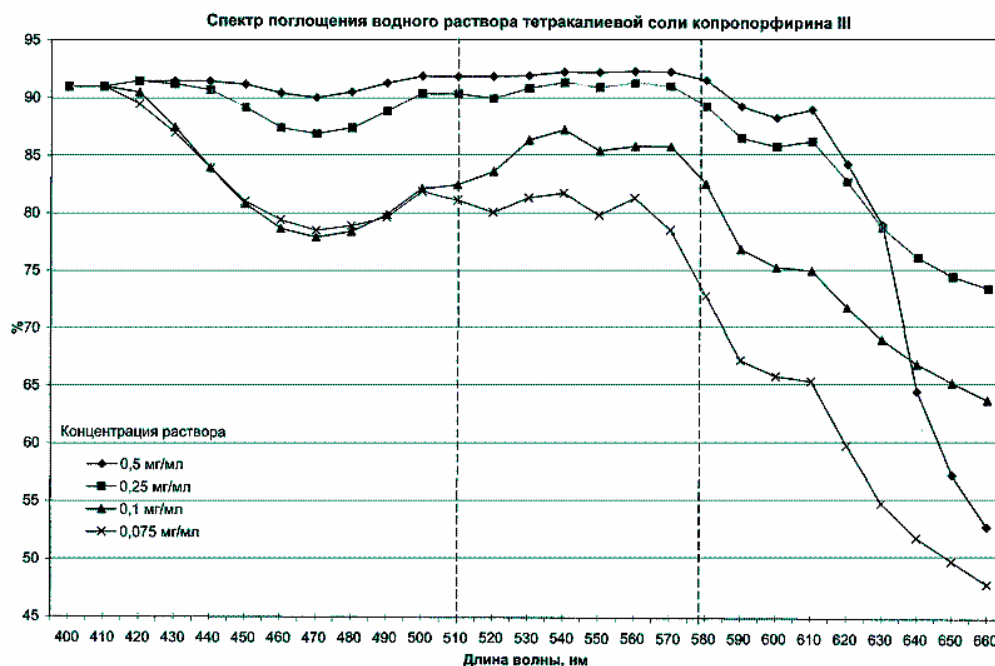


Рис. 4. Спектр поглощения водного раствора тетракалийевой соли копропорфирина III

Желто-зеленый диапазон спектра излучения лазера соответствует области максимального поглощения фотосенсибилизатора копропорфирин III (рис. 4).

В результате серии проведенных экспериментов доказано, что за счет повышенной проницаемости микрососудов копропорфирин III избирательно накапливается в новообразованиях и при лазерном облучении вызывает деструкцию опухоли, в первую очередь - за счет фотодинамического повреждения ее сосудов и блокады кровотока.

Установлено также, что желто-зеленое излучение лазера на парах меди тормозит рост и метастазирование опухоли наряду с выраженным противовоспалительным действием и способностью усилить регенерацию тканей. Регенерация эпителия и восстановление кожного покрова происходит в три раза быстрее, чем при традиционных методах лечения.

Комплекс позволит осуществлять раннюю флуоресцентную диагностику новообразований кожи, слизистой оболочки полости рта, полых органов, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы с целью интраоперационного выявления скрытых очагов опухоли, а также для уточнения границ распространения опухолевых поражений. Диагностика с помощью регистрации люминесценции фотосенсибилизатора копропорфирин III в новообразованиях является чрезвычайно чувствительной и позволяет обнаруживать опухоли диаметром до 2 мм, причем по ее интенсивности определять природу опухоли. Применение световода позволяет проводить внутрисполостное облучение пищевода, желудка, кишечника, бронхов и других полых органов через эндоскоп.

В специальных модельных опытах на крысах мы изучили механизм действия копропорфирина.

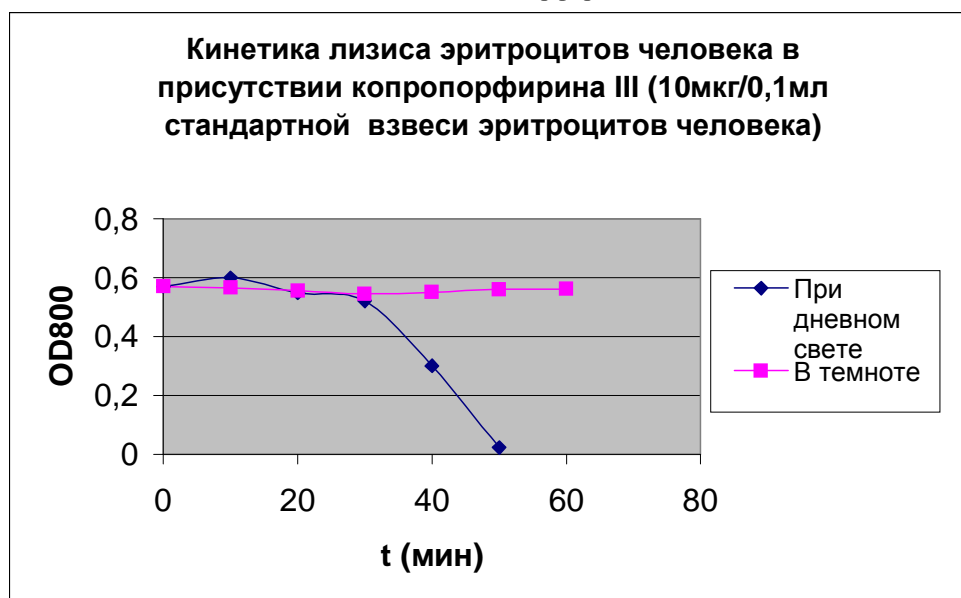


Рис. 5. Кинетика лизиса эритроцитов человека в присутствии копропорфирина III

Как видно на рис. 5, копропорфирин, накапливаемый в ткани, способствует интенсивному образованию синглетной формы кислорода и быстрому гемолизу эритроцитов. Кроме того, у интактных (контрольных) животных и крыс с лимфосаркомой Плисса было изучено влияние лазерного излучения на сосуды микроциркуляторного русла брызжейки тонкой кишки на фоне внутривенно введенного раствора копропорфирина -III. Наблюдалось замедление и остановка кровообращения, тромбоз микрососудов брызжейки. Эти изменения появлялись значительно быстрее и были более выражены у животных-опухоленосителей, чем у интактных крыс, что свидетельствует о большем накоплении копропорфирина в паранеопластически измененном эндотелии микрососудов.

В дальнейшем исследования проводились на крысах -самцах Wistar с перевитой лимфосаркомой Плисса с использованием внутривенного раствора копропорфирина и аппликациями на поверхность опухоли.

Опухоль облучали через 24 часа при внутривенном введении и через 3-4 часа при внутриопухолевом введении. Оптимальное время облучения опухоли при аппликации мази с копропорфирином определяли по степени насыщения опухоли препаратом. Показана достоверная разница скорости поглощения копропорфирина-III опухолью и нормальной тканью, которая может быть использована для флуоресцентной диагностики и контроля насыщения опухоли препаратом при фотодинамической терапии. После серии сеансов ФДТ отмечалось достоверное за-

медление скорости роста опухоли и уменьшение ее размеров по сравнению с контролем, а также увеличение срока жизни подопытных животных.

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что копропорфирин-III является эффективным фотосенсибилизатором и может быть использован в сочетании с доступным лазерным аппаратом в ветеринарной практике для диагностики и лечения новообразований. Созданы также хорошие предпосылки для реализации этого проекта в широкую медицинскую практику.

Работа представлена на научную международную конференцию «Интеграция науки и образования», Сейшелы, 21-28 февраля 2008 г. Поступила в редакцию 14.01.2008.

Д-ДИМЕР КАК РАННИЙ ПРЕДИКТОР ТРОМБОЭМБОЛИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ И МАРКЕР ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА В СОЧЕТАНИИ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Николаев Н.А., Елисеева И.П., Фирстова Л.П., Колбина М.В., Остапенко В.А., Долгих Т.И., Елисеева Л.Н., Елисеев П.Н.

*ГОУ ВПО Омская государственная медицинская академия Росздрава
Омск, Россия*

Одной из актуальных проблем практического здравоохранения является высокая частота заболеваний, неблагоприятно влияющих на состояние эндотелия и дестабилизирующих систему гемостаза, что повышает риск тромбообразования, с развитием жизнеугрожающих и фатальных осложнений. К таким заболеваниям, в первую очередь, следует отнести ишемическую болезнь сердца (ИБС) и сахарный диабет. Сочетание ИБС и сахарного диабета типа 2 (СД-2) существенно повышает частоту развития тромботических осложнений и является еще более прогностически неблагоприятным. В этой связи становится востребованным внедрение в клиническую практику методов раннего выявления больных с повышенным риском тромбообразования.

Таким специфическим высокочувствительным лабораторным маркером является D-димер. Будучи одним из главных показателей глобальной активации системы гемостаза, D-димер характеризует как синтез фибрина, так и его деградацию. Однако оставалась невыясненной его диагностическая ценность при применении у больных с сочетанной патологией (ИБС и СД-2), способной комплексно и разноуровнево влиять на систему гемостаза. В результате выполненного исследования установлено, что изменение уровня D-димера является статистически значимым диагностическим признаком гиперкоагуляции и эндотелиальной дисфункции у этой

категории больных, и способно характеризовать интенсивность патологических процессов, протекающих с фибринолизом. Количественное определение D-димера методом латексной агглютинации у больных ИБС в сочетании с СД-2 позволяет количественно оценить риск развития жизнеугрожающих гиперкоагуляционных осложнений, охарактеризовать угрозу тромбообразования в момент исследования, является инструментом оперативного контроля над качеством антиагрегантной и гипокоагуляционной терапии.

Важной является и доступность метода. Определение D-димера методом латексной агглютинации является рутинным, легко воспроизводимым, недорогим и унифицируемым методом. По соотношению цена/качество/временные затраты определение D-димера приемлемо для скринингового применения как на этапе стационарного лечения больного, так и в амбулаторно-поликлинических условиях.

По нашему мнению, дальнейшие исследования D-димера, как раннего предиктора тромбоэмболических осложнений, должны быть направлены на выработку клинико-диагностических критериев его определения (разработка диапазона критических значений, оценка влияния потенциально лимитирующих факторов: пола, возраста и расовой принадлежности пациентов, сопутствующей патологии, физиологических состояний и проводимой терапии).

Работа представлена на V научную международную конференцию «Современные проблемы экспериментальной и клинической медицины», Тайланд (Паттайа), 20-28 февраля 2008 г. Поступила в редакцию 25.12.2007.

ПЕРЕДАЧА ИНФОРМАЦИИ ПРИ КОРМЛЕНИИ МЛАДЕНЦЕВ МОЛОКОМ

Петров И.М., Петров М.Н.

*Сибирский федеральный университет
Красноярск, Россия*

Молоко – важнейшая биологическая жидкость. Молоко основной источник питания младенцев. Молоко подвергается органолептическому, физико-химическому и микробиологическому исследованиям. Устанавливают плотность молока, группу жирности, кислотность, содержание жира, общее количество бактерий и т.д. [1]. В основе молока содержится вода и это позволяет применить новый подход к исследованию.

В последнее время в России и за рубежом большое внимание уделяется исследованиям свойств воды с точки зрения возможности накопления и переноса информации. При этом доказано, что вода «помнит», вода помнить свойства, вещества которые в ней когда-то растворяли; что вода поддается магнитной обработке; вода меняет свои физические свойства в зависимости от цвета скатерти, на которой стоит стакан. Эффект