

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра оптики и биофотоники

Фотодинамическая терапия псориаза

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ (МАГИСТЕРСКОЙ, ДИПЛОМНОЙ)
РАБОТЫ

Студента(ки) 4 курса 434 группы
направления (специальности) _____ направления 03.03.02 «Физика»

_____ физического факультета

наименование факультета, института, колледжа

_____ Сафонов Владимир Альбертович _____

фамилия, имя, отчество

Научный руководитель

_____ к.ф.-м.н., ассистент _____

должность, уч. степень, уч. звание

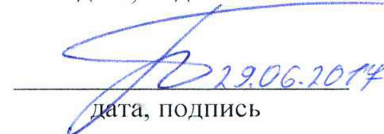
 29.06.2017
дата, подпись

_____ П.А. Тимошина _____

инициалы, фамилия

_____ д.ф.-м.н., профессор _____

должность, уч. степень, уч. звание

 29.06.2017
дата, подпись

_____ В.В. Тучин _____

инициалы, фамилия

Саратов 2017

Введение

Новая лазерная технология – фотодинамическая терапия (ФДТ) является одним из самых новых методов лечения псориаза.

ФДТ имеет довольно долгую историю, однако её активное развитие началось в 80-х гг. прошлого столетия. Первым источником света, который применялся в фото медицине, был обычный солнечный свет. Он использовался в лечебных целях ещё в Древнем Египте.

Фототерапия (светотерапия) – это одно из методов физиотерапии, при котором применяются спектры излучения ИК, видимого и УФ диапазонов. По мнению академика Давыдовского: «Благодаря солнечной энергии происходит прямо или косвенно непрерывная стимуляция течения всех основных биоэнергетических и пластических процессов». [1]

Сегодня, не удовлетворяющие запросы традиционных методов лечения псориаза, ведут к поиску новых подходов, основанных на современных достижениях в науке фотохимии, фотобиологии и квантовой физики. В последние годы выделяется активный интерес к экспериментально-клиническому изучению и улучшению методов лазерной терапии. Обильный спектр терапевтических эффектов ведет к разнообразному применению лазерного излучения. К достоинствам лазерной терапии можно отнести возможность комбинаций с традиционными средствами, а также безболезненность и комфортность для пациентов.

Анализируя данные по клиническим испытаниям ФДТ, необходимо выделить, что они относятся главным образом к злокачественным новообразованиям. Идея применять ФДТ в онкологии появилась сразу в последствии, как стало известно, что некоторые ФС выборочно накапливаются непосредственно в пролиферирующих тканях. Соответствие в возникновении неопластических изменений в формировании псориазического процесса, а также полученные результаты при лечении раковых заболеваний методом ФДТ, указывают на эффективное применение этого метода в терапии различных форм псориаза.

Проблема лечения псориаза остается актуальной по причине широкого распространения данной патологии. По данным некоторых источников, больные псориазом составляют от 2% до 10% от всех видов кожных заболеваний. [2]

Применение ФДТ в лечении псориаза на настоящее время касается в основном аппликационного характера. Определенным шагом вперед в ФДТ для лечения псориаза является активное появление новых ФС, обладающих высокой селективностью накопления в патологических клетках и коротким периодом выведения из организма.

В научной медицине куркума применяется достаточно широко. Основным действующим веществом куркумы является куркумин, с которым связаны антиоксидантные, противовоспалительные, противоопухолевые, антидепрессивные и др. свойства куркумы. Куркумин по химическому составу состоит из двух составляющих – деметоксикуркумина и бис-деметоксикуркумина.

Цели и задачи

1. Разработать новую методику ФДТ с использованием красителя «Куркумин» для лечения больных псориазом ногтей.
2. Оценить эффективность облучения ногтей, пораженных псориазом.
3. Дать оценку эффективности классической медикаментозной терапии больных псориазом ногтей.
4. Провести сравнение эффективности данных методик и влияния их на продолжительность ремиссии и течение последующих рецидивов псориаза.

Структура дипломной работы

Дипломная работа включает в себя: введение, теоретическую часть - краткий обзор литературы, история ФТД, ФДТ псориаза, псориаз и его типы, современные методы лечения, куркумин и его свойства. экспериментальную часть - материалы и методы, модельные эксперименты с препаратом, ex vivo эксперимент, in vivo эксперимент, результаты и обсуждение, заключение,

список литературы и приложение. Работа представлена на 71 странице. Содержит 25 рисунков, 2 таблицы, 43 источника, и 1 приложение.

Основное содержание работы

В выпускной квалификационной работе представлены результаты исследований псориаза и псориаза ногтей. Воспаления ногтей обнаружено у 80-90% пациентов с псориазом, а еще чаще встречается у пациентов с псориатическим артритом. Из-за чего был рассмотрен ряд статей, связанных с данной воспаленной локализацией.

Исходя из анализа просмотренных и изученных статей [1-43] с псориазом ногтей, веществом активно набирающее популярность, в медицинской практике, является куркумин («экстракт куркумы»).

Был произведен краткий обзор истории и механизма действия ФДТ, краткий обзор видов фотосенсибилизатора, виды псориаза, а так же методы его лечения.

Затем было предложено использовать природный краситель «Куркумин» экстракт куркумы, обзор литературы и его свойств было так же показано в данной работе.

В результате проделанной работы был предложен дифференцированный подход лечения к значению лазерного воздействия в зависимости от формы псориаза и распространенности высыпаний. Практической значимостью работы является то, что метод ФДТ используемый в данной работе нетоксичен и высоко эффективен. Применение этого метода может значительно улучшить результаты лечения и качество жизни больных псориазом ногтей, что позволяет рекомендовать ФДТ для широкого внедрения в лечебно-профилактических учреждениях.

Материалы и методы

Так как ногтевая пластина состоит в основном из кератина, с низким содержанием липидов и воды, она работает в качестве гидрофильного барьера. Липиды важны для транспортировки в основном для гидрофобных

веществ. По мере того как ногтевая пластина препятствует проникновению ФС, мы изучали новые способы, чтобы улучшить успех терапии с куркумином.

Перед приготовлением растворителя измерялся показатель преломления (п/п) веществ с помощью рефрактометра «ИРФ– 454Б2М»

Для наших исследований был выбран раствор, состоящий из:

Куркумина (концентрация 95%) – США, «Now Foods»

Глицерина (концентрация 99%) – (п/п1,4731) – Россия, «Реахим»

Этанола (концентрация 99%) – (п/п1,3635) – Россия, ЗАО «РФК»

Димексида (концентрация 99%) – (п/п1,4774) – Россия, ООО «Тульская фармацевтическая фабрика»

Дистиллированная вода – (п/п1)

При этом соотношении, веществ в растворе составляло – 40% этанола, 40% глицерина, 10% воды, 10% диметилсульфоксида (ДМСО), Данный состав увеличивал проницаемость кожи и доставку препарата под кожу.

Расчет концентрации производился с помощью весового соотношения, вес растворителя к весу растворенного вещества по формуле (1).

$$\text{_____} \quad (1)$$

Аналогично рассчитана концентрация для других растворов: 1.5%)
=0.1545гр, 0.15%)=0.01545гр

Масса веществ рассчитана по формуле (2)

$$\text{_____} \quad (2)$$

Концентрация (C) равна:

$$\text{_____} \quad (3)$$

n – количество растворенного вещества

$$\text{_____} \quad (4)$$

Способ приготовления: в чистый ДМСО добавлялась необходимая навеска 95%-го куркумина в виде сухого порошка, после чего, полученный раствор помещался в ультразвуковую ванну, для лучше растворения примерно в течении 5 минут. Далее поэтапно в полученный раствор следом добавлялся этанол 99%, после чего глицерин 99% и в последнюю очередь добавлялась вода. Важно, чтобы температура веществ была выше 20 градусов по Цельсию, так как температура плавления ДМСО составляла 18 градусов по Цельсию. Если температура ниже, то так же выпадал осадок.

В итоге получили 3 раствора по 10мл с концентрациями куркумина: 0.15% 1% и 1.5%

Модельные эксперименты с препаратом, наблюдение стабильности и оптические характеристики

После приготовления препарата, были измерены оптические свойства по отношению ко времени. Препарат хранился при температуре +3С, и +21С. Измерения оптической плотности и флуоресценции препарата проводили в концентрации $1 \times$ моль/л.

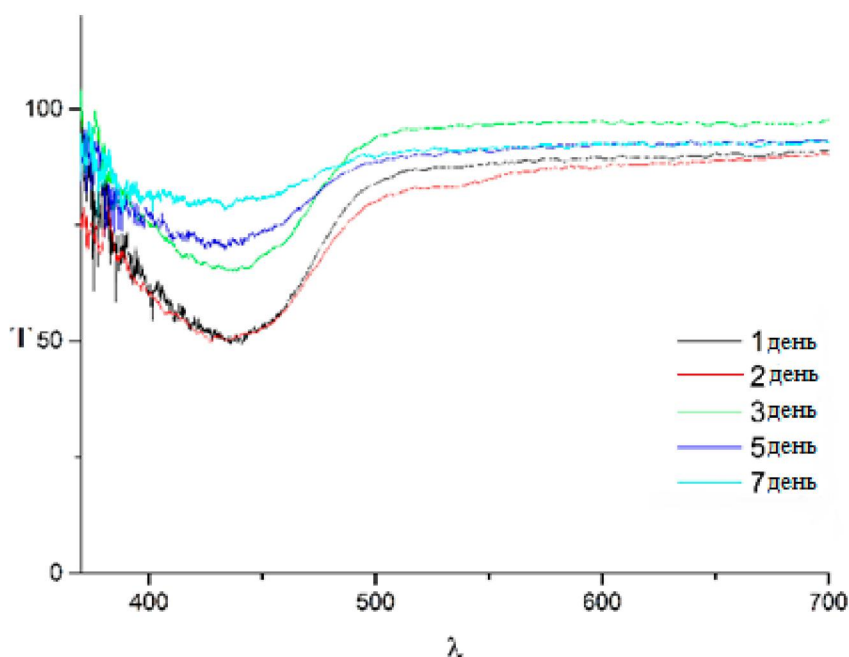


Рисунок 9 Оптическое пропускание препарата, в 1,2,3,5,7 день. Препарат хранился в холодильнике.

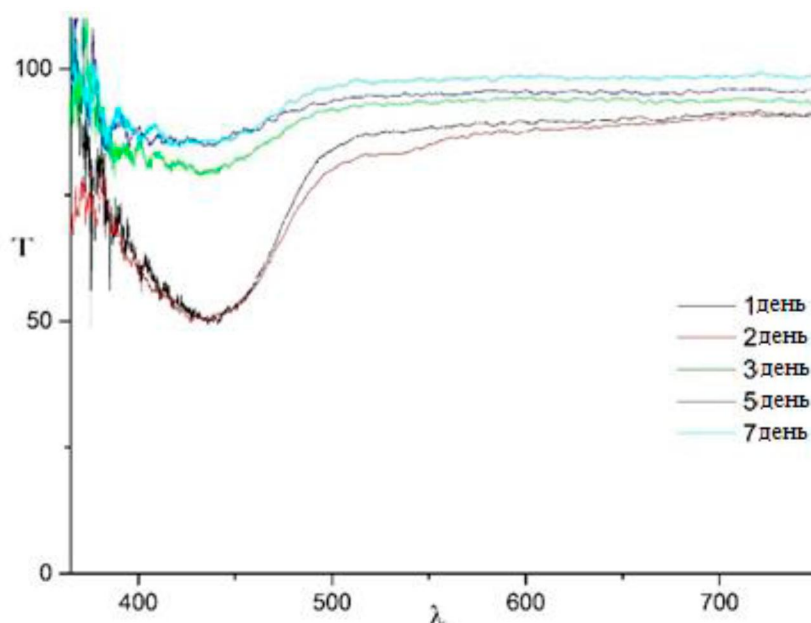


Рисунок 10 Оптическое пропускание препарата, в 1,2,3,5,7 день. Препарат хранился в тепле.

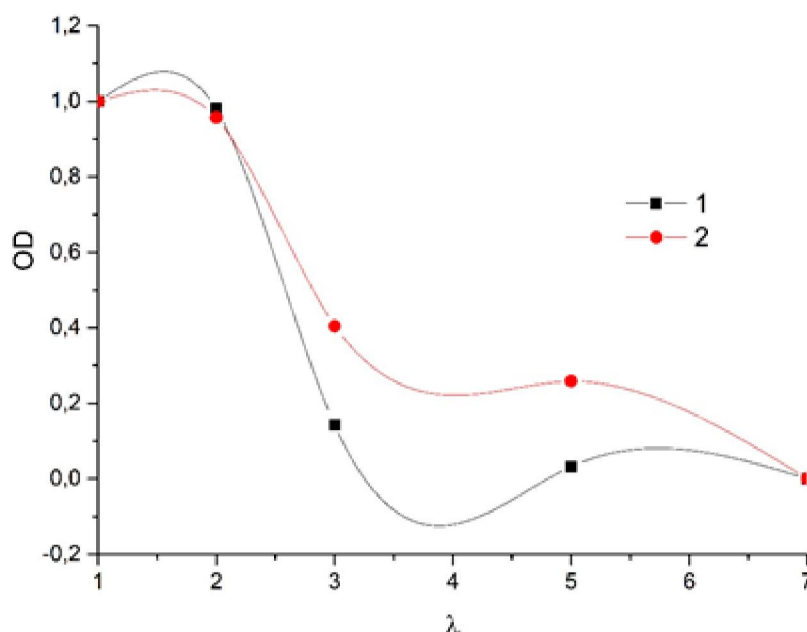


Рисунок 11. Отношение оптической плотности относительно времени двух одинаковых растворов, 1-хранился при комнатной температуре, 2-хранился в холодильнике

Измерение спектров интенсивности возбуждения и интенсивности люминесценции раствора через 1, 2, 5 и 7 дней (рисунок 13-15). Измерения проводились с помощью спектрометра LS 55 Perkin Elmer, США длина волны возбуждения 430нм, длина волны возбуждения люминесценции 530нм.

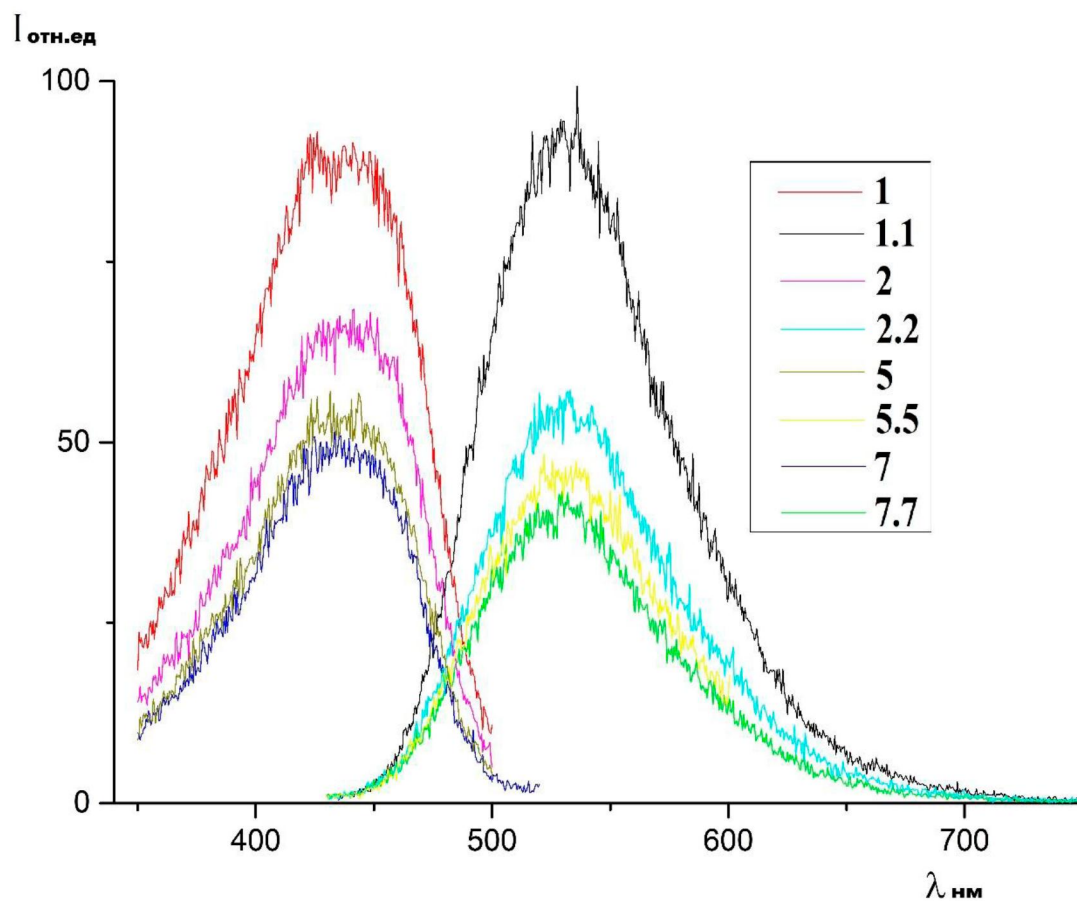


Рисунок 13 Спектр интенсивности возбуждения: 1-через один день, 2, через два дня, 5-через пять дней, 7 через семь дней. Интенсивности люминесценции: 1.1- через один день, 2.2- через два дня, 5.5- через пять дне 7.7- через семь дней. Препарат хранился при комнатной температуре.

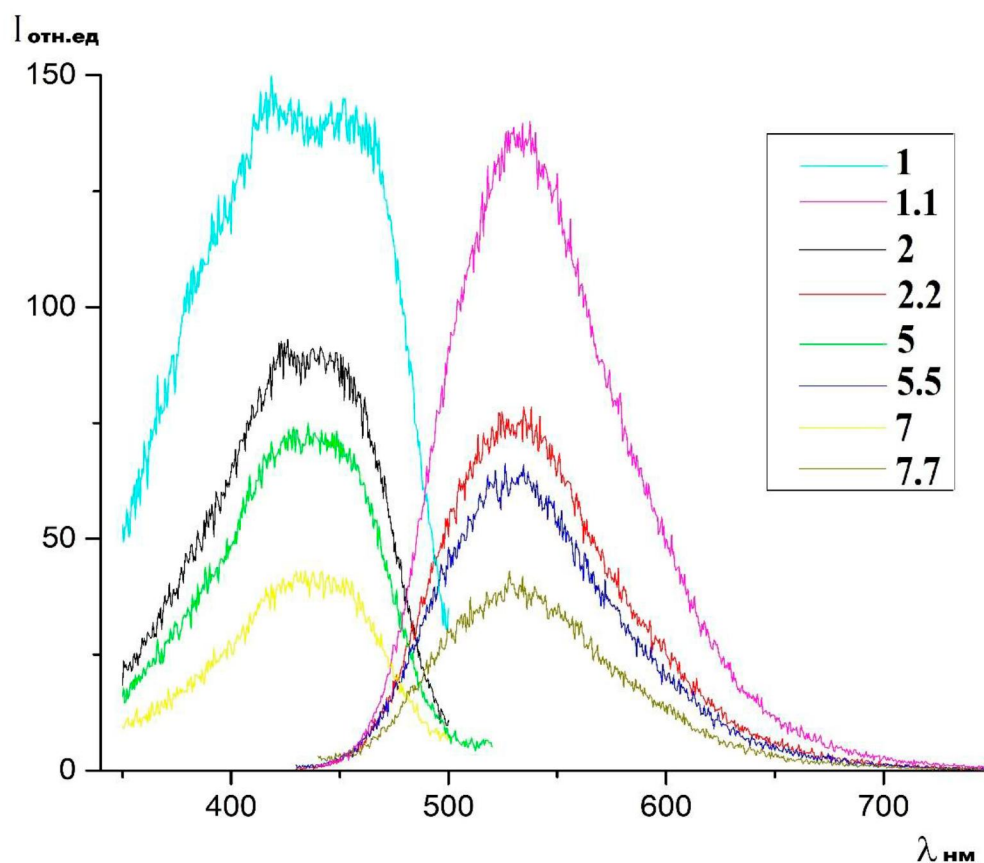
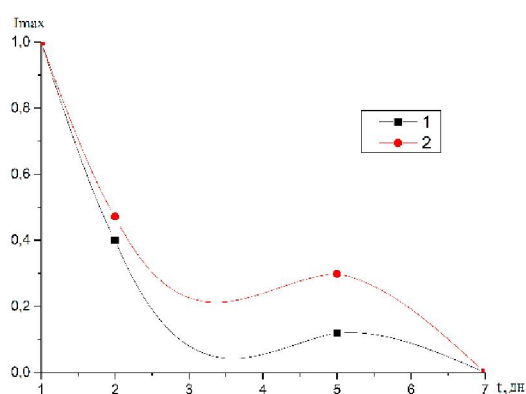
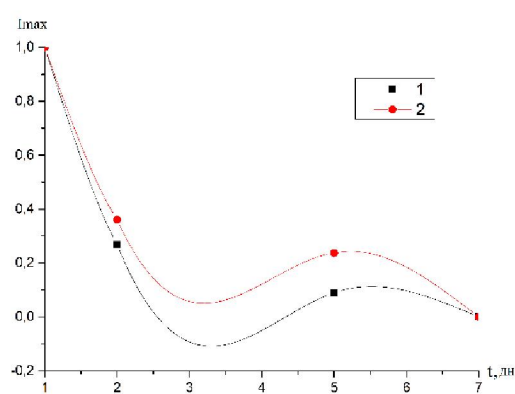


Рисунок 14 Спектр интенсивности возбуждения: 1-через один день, 2, через два дня, 5-через пять дней, 7 через семь дней. Интенсивности люминесценции: 1.1- через один день, 2.2- через два дня, 5.5- через пять дне 7.7- через семь дней. Препарат хранился в холодильнике.



15.a



15.б

Рисунок 15.a) Изменения максимума интенсивности возбуждения относительно времени. 1-хранение при комнатной температуре, 2-хранение в холодильнике; 15.б) Изменение максимума возбуждения

люминесценции относительно времени. 1-хранение при комнатной температуре, 2-хранение в холодильнике

Затем был построен график зависимости коэффициента пропускания от концентрации на длине волны 430нм представленный на рисунке 16.

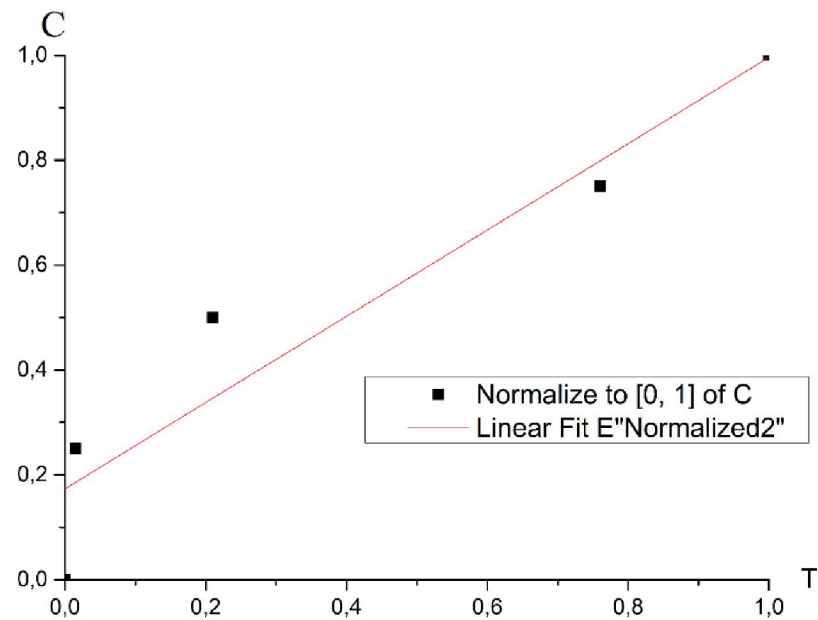
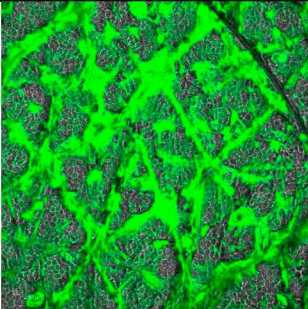
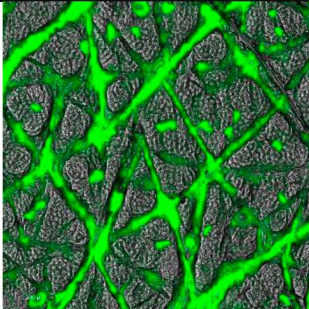
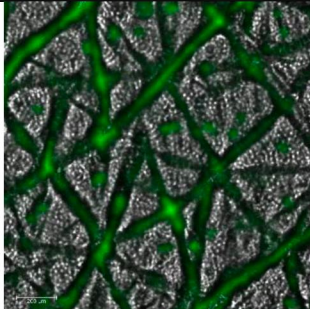
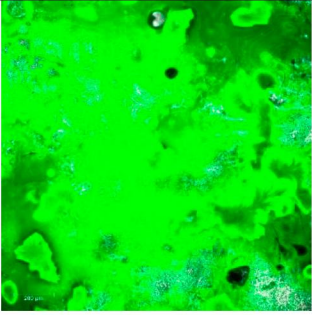
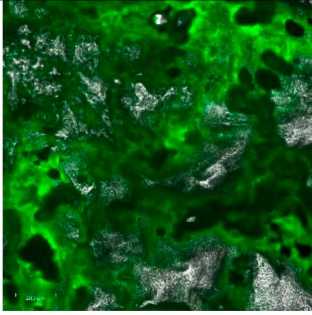
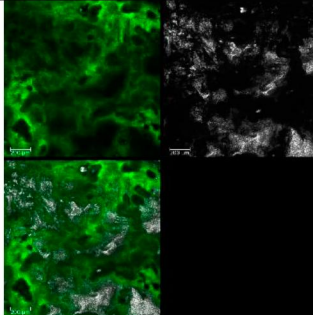


Рисунок 16. Зависимость коэффициента пропускания (Т) от концентрации(С).

Ex vivo эксперимент.

Таблица 1. Результаты снимков с конфокального лазерного сканирующего микроскопа.

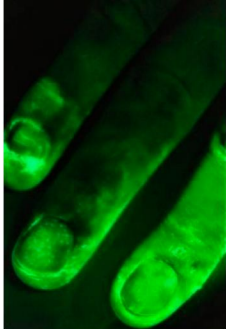
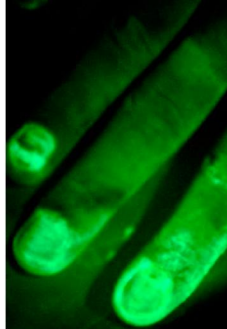
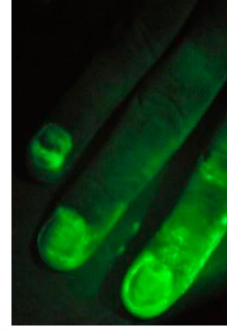
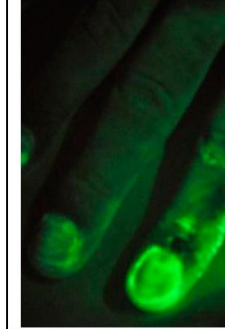
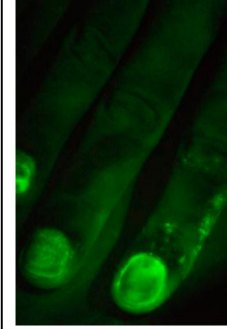
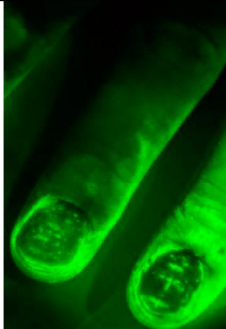
			Пациент 1, 1отрыв, здоровая кожа. После поверхностного нанесения
поверхность	+55мкм	+120мкм	

			Пациент 1, 1 отрыв, воспаленная кожа. После поверхностного нанесения
поверхность	+90мкм		

In vivo эксперимент

Затем произведено наблюдение активности препарата в течении нескольких дней in vivo. Результаты полученных экспериментов видно в таблице №2

Таблица 2 Визуальное наблюдение активности препарата.

				
1 день после нанесения	2 день после нанесения	3 день после нанесения	4 день после нанесения	5 день после нанесения
				
1 день нанесения после чего ногти обтачивались	7 день после нанесения			

In vivo эксперимент с полученным препаратом на основе куркумина

Полученные результаты лечения пациентов в течении 5-6 недель дали положительную оценку.



20.а



20.б



20.в



21.а



21.б

Рисунок 20.а) Куркумин 1.5% 6 недель, мужчина 22 года; 20.б) Рисунок 16.2 Куркумин 1% 6 недель, мужчина 22 года; 20.в) Куркумин 0.15% 6 недель, мужчина 22 года; Рисунок 21.а) Куркумин 1% 5 недель, женщина 50 лет; 21.б) Куркумин 0.15% 5 недель, мужчина 50 лет

Заключение

Исходя из теоретической части исследовательской работы, подведены итоги: фотодинамическая терапия, новое направление с огромным потенциалом в области медицины. Практическая эффективность работы ФДТ является в том, что этот исследованный метод нетоксичен и высоко эффективен. Применение этого метода может значительно улучшить

результаты лечения и качество жизни больных псориазом ногтей, что позволяет рекомендовать фотодинамическую терапию для широкого внедрения в лечебно-профилактических учреждениях. По результатам эксперимента *in vivo* мы наглядно показали положительный результат у 50% пациентов независимо от пола и возраста.

Из недостатков и трудностей эксперимента было выявлено: во время подбора концентраций и приготовления при температуре меньше или равной +18С выпадает осадок, и при концентрации куркумина примерно от 2% и выше, в препарате так же наблюдался осадок.

Исходя из спектров оптического пропускания, было выявлено ухудшение поглощения препарата в среднем: через 1-2 дня без изменений, через 3 дня ухудшилось на 29%, через 7 дней на 50%. Что говорит о стабильности препарата в течении первых 2-3 дней, затем активность препарата падает. В заключении хотелось добавить что данная работа требует еще много времени для более детального исследования, а так же решение проблем с доставкой в более глубокие ткани и проблем решения стабильности препарата.

29.06.2014

