

Профилактика грибковых заболеваний с помощью фотодинамической терапии



Дуванский Павел Владимирович

Обучающийся ГБОУ МО «Одинцовский «Десятый лицей»

Научные руководители:

Карев Дмитрий Александрович

Учитель ОБЖ, химии и биологии, ГБОУ МО «Одинцовский «Десятый лицей»,

Дуванский Владимир Анатольевич

Доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой эндоскопии, эндоскопической и лазерной хирургии
ФНМО МИ Российского университета дружбы народов
им. Патриса Лумумбы, руководитель комитета по образованию
Правления Российского эндоскопического общества

Аннотация: В работе проведено исследование возможности использования дерматофитов и дрожжей для выявления и уничтожения грибковых заболеваний на ранних стадиях, предварительные результаты показали, что они могут быть эффективно сенсibilизированы путем введения фотосенсibilизаторов.

Ключевые слова: фотодинамическая терапия, фотосенсibilизатор, фотосенсibilизация грибков, фотодитозин, хлорины.

Prevention of fungal diseases with photodynamic therapy

Duvanskiy Pavel Vladimirovich

Scientific adviser:

Karev Dmitriy Aleksandrovich

Duvanskiy Vladimir Anatolyevich.

Abstract: The paper investigates the possibility of using dermatophytes and yeast to detect and destroy fungal diseases in the early stages, preliminary results have shown that they can be effectively sensitized by introducing photosensitizers.

Keywords: Photodynamic therapy, Photosensitizer, photosensitization of fungi, Photoditoin, Chlorins.

Введение и обоснование выбора темы

Растущая устойчивость к противогрибковым препаратам возобновила поиск альтернативных методов профилактики и лечения грибковых заболеваний, и антимикробная фотодинамическая терапия, по-видимому, является потенциальным кандидатом.

Предварительные результаты показали, что дерматофиты и дрожжи могут быть эффективно сенсibilизированы путем введения фотосенсibilизаторов, которые имеют три поколения: порфирины, фталоцианины и хлорины. Помимо эффективности, ФДТ продемонстрировала и другие преимущества:

Во-первых, используемые сенсibilизаторы являются высокоселективными, то есть грибки могут быть уничтожены при комбинации более легких доз препарата, в отличие от тех, которые сейчас используют для аналогичного воздействия.

Во-вторых, все исследования, посвященные ФДТ, доказали отсутствие генотоксической и мутагенной активности при использовании данного метода.

Наконец, на данный момент не сообщалось о наличии устойчивых к ФДТ грибков.

Цель исследования

Целью исследования является подтверждение гипотезы о возможности избавления человечества от грибков, устойчивых к антигрибковым препаратам.

Основные моменты, на которые нужно обратить внимание

Прежде всего, ФДТ — это многоступенчатый процесс. Сначала в отсутствие света вводят фотосенсibilизатор либо системно, либо местно. Когда в пораженной ткани или в клетке появляется достаточное количество фотосенсibilизатора, он активируется воздействием света в течение определенного периода. Световая доза обеспечивает достаточную энергию для стимуляции фотосенсibilизатора, но недостаточную для повреждения соседних здоровых тканей. Активный кислород убивает клетки-мишени. Разрушения грибковых клеток связано с перфорацией клеточной стенки и клеточной мембраны, индуцируемое ФДТ. В первую очередь происходит выделение синглетного кислорода и радикалов, которые дают возможность красителю проникнуть в клетку. Далее фотодинамический краситель повреждает лизосомы, митохондрии и ядро, что неминуемо ведёт к гибели клеток.

Также, по определению, ФДТ требует источника света, который производит энергию, необходимую для производства синглетного кислорода. Требуемая энергия определяется молекулярной структурой фотосенсibilизатора и, таким образом, для фенотиозинов требуется диапазон светового возбуждения около 600-660 нм, а для фталоцианинов, около 630-690 нм. Порфирины могут возбуждаться светом в красной области спектра, но и синий свет они эффективно поглощают. В идеале источники света должны обеспечивать сильный выходной сигнал на необходимой длине волны для фотовозбуждения. Лазеры, а также менее дорогие и простые в использовании светодиодные и люминесцентные лампы, являются наиболее часто используемыми источниками света в ФДТ на сегодняшний день. Типичная выходная мощность источников света, используемая в противогрибковой ФДТ, находится в диапазоне 10-100 мВт. Пропускание света через ткань уменьшает степень поглощения данного света, что ведёт

к большому времени облучения или к отсутствию результата.

Было исследовано несколько сенсобилизаторов, в основном принадлежащих к видам порфирины, фталоцианины и хлорины. Было обнаружено, что антимикробный и фунгицидный фотодинамические эффекты зависят от физических и химических параметров, например пика поглощения (k_{max}), интенсивности поглощения (ϵ_{max}) и квантового выхода синглетного кислорода. Кроме того, механизмы и эффективность инактивации клеток критически зависят от других химических свойств липофильности, баланса гидрофильности, степень ионизации и наличие электрически заряженных групп, которые определяют тип и эффективность клеточных механизмов поглощения красителя и характер их распределения среди различных субклеточных компонентов. В отличие от клеток млекопитающих, грибы окружены жесткой клеточной стенкой, состоящей в основном из растворимых и нерастворимых полисахаридных полимеров, таких как хитин, бетаглюканы и глико-белки. Как правило, на поглощение клетками отрицательно влияет липофильность молекул и положительно гидрофильность в присутствии электрически заряженных групп. После поглощения сенсобилизаторы распределяются по субклеточным мишеням. Характер локализации данной группы очень важен, потому что мишени, расположенные рядом с сенсобилизатором, имеют наибольшую вероятность вовлечения в фотопроект из-за высокой реакционной способности и короткого времени жизни промежуточных активных форм кислорода.

Результаты исследования

В качестве примера для исследования были взяты 3 вида грибов: *Mucor*, *Penicillium* и *Aspergillus*. В процессе изучения была проведена работа с грибами, используя эмпирические методы — метод преобразования объекта. В соответствии с целью и задачами исследования плесневые грибы были разделены на 3 группы

Таблица 1

Название	Контрольная группа	Группа №1	Группа №2	Группа №3
<i>Mucor</i>	Рост продолжился	Рост остановился	Рост продолжился	Полное уничтожение колоний грибка
<i>Pencilinum</i>	Рост продолжился	Рост остановился	Рост продолжился	Полное уничтожение колоний грибка
<i>Asper-gillus</i>	Рост продолжился	Рост остановился	Рост продолжился	Полное уничтожение колоний грибка

В ходе изучения результатов эксперимента была определена основная проблема, которая возникает при работе с хлоринами, а именно разное время проникновения фотосенсибилизатора в грибы, что приводит к увеличению времени проведения исследования. Для расчёта необходимой дозы Фотодитозина и необходимой дозы облучения мы пользовались формулой:

$$k_{эфф} (\text{л}/(\text{моль}\cdot\text{с})) = \Delta C_s / (C_{ph} C_s \Delta t)$$

C_{ph} – концентрация фотодитозина; C_s и ΔC_s – концентрация субстрата и изменение этой концентрации за время Δt соответственно.

Для достоверности опытов наблюдения за группами проводилось на протяжении одного месяца. Температура, влажность воздуха и освещённость помещения для каждой группы была одинакова.

В конце месяца группа № 2 (рисунок 2) не показала существенного роста, по сравнению с началом эксперимента, а группа № 3 (рисунок 3) полностью исчезла.

Контрольная группа и группа № 1 (рисунок 1) продолжили своё развитие.



Рисунок1 - группа №1

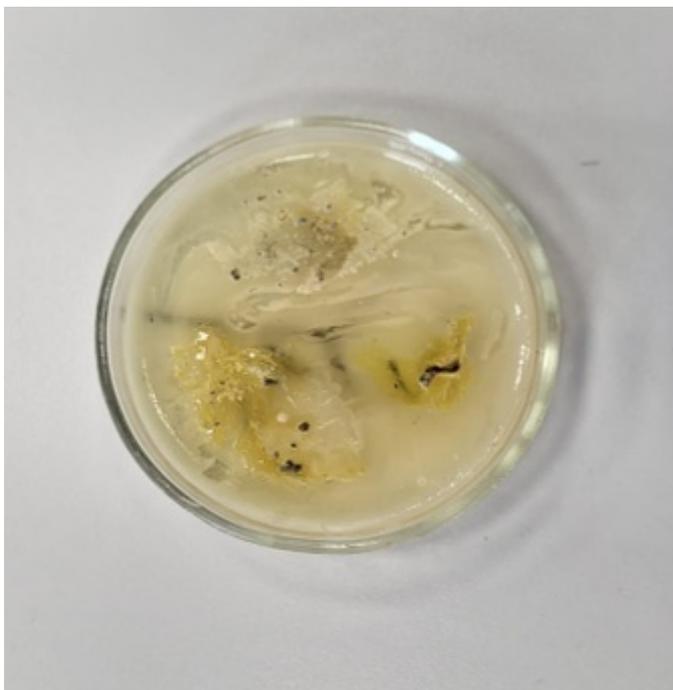


Рисунок 2



Рисунок 3

Заключение и вывод.

Исходя из заданных задач, нами было изучено поведение колоний грибов после облучения светодиодной лампой и выведена закономерность процессов, происходящих в клетки. Прежде всего, после добавления фотосенсобилизатора, клетки гриба начинают активно накапливать данное вещество. Время, за которое клетки организма это делают, зависит от типа грибка. Для *Mucor* необходимо около 30 минут для полного проникновения фотосенсобилизатора внутрь клетки, для *Penicillium* 40 минут, а для *Aspergillus* 55 минут.

Фотосенсибилизация грибков сильно отличается от фотосенсибилизации опухолей и бактерий. Главной отличительной чертой является двухступенчатый механизм проникновения фотосенсибилизатора в клетку. Это связано с особым строением клеточной стенки данного вида, что ведёт к увеличению времени, которое требуется для начала фотосенсибилизации.

Следует отметить, что выбор фотосенсибилизатора был обусловлен, тем что на данный момент хлорины являются самым изученным и многофункциональным классом фотосенсибилизаторов 2-ого поколения. Свет с длиной волны в 661 нм, взаимодействуя с фотодитозином, запускает фотодинамические механизмы, которые и разрушают клетку грибка. Более дешёвые аналоги, на подобии Метиленовый синий, имеют фунгицидный эффект, поэтому выбор этого фотосенсибилизатора является очевидным. Длина волны, необходимая для фотосенсибилизации хлоринов, рассчитана учёными из института Университет Брешии.

Следует отметить, что все группы, кроме группы № 3, не показали полного или частичного убийства грибков, что является доказательством необходимости фотосенсибилизатора и излучения для проведения профилактики.

В конце хочется сказать, что ФДТ, в перспективе, способна заменить неэффективные моющие средства, которые сейчас используются для мытья поверхностей.

Список литературы

1. Отделение дерматологии Университет Брешии, Италия, 2012 года. «Фотодинамическая противогрибковая химиотерапия»

2. Википедия, или свободная энциклопедия.

И с т о ч н и к : https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.8568fbca-64049c93a376c4f174722d776562/https/en.wi... (Дата обращения: 21.02.2023)

3. Википедия, или свободная энциклопедия.

И с т о ч н и к : https://ru.wikipedia.org/wiki/Фотодинамическая_терапия (Дата обращения: 27.12.2022)

4. Википедия, или свободная энциклопедия.

Источник: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Фталоцианины> (Дата обращения: 07.01.2023)

5. Фармакологический онлайн справочник

Источник: <https://pdt.niopik.ru/drugs/photosens/> (Дата обращения: 13.01.2023)

6. Википедия, или свободная энциклопедия.

И с т о ч н и к : https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.7588a3bf-640db0be-202eae33-74722d776562/https/en....

7. Википедия, или свободная энциклопедия.

И с т о ч н и к : https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.26357112-640db2ea-fd63ea37-74722d776562/https/en....

8. Фармакологический онлайн справочник

Источник: https://medi.ru/instrukciya/fotoditazin_24190/ (Дата обращения: 29.11.2022)

9. Kessel, David «Фотодинамическая терапия: краткая история». (10.02.2019)

10. Джозефсен, Лиэнн Б.; Бойл, Росс У. «Фотодинамическая терапия и разработка фотосенсибилизаторов на основе металлов» (01.01.2008)