

10. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И., Мелик-Агаева Е. А. В кн.: Третий Всесоюзный биох. съезд. Рефераты научных сообщений, т. 2. Рига, 1974, с. 242.
11. Тарусов Б. Н. Первичные процессы лучевого поражения. М., 1962.
12. Хачатрян С. А., Карагезян К. Г., Овакимян С. С., Казарян А. А., Папаян А. А., Чухаджян С. А. В кн.: Материалы III Всесоюзного съезда патофизиологов. Тбилиси, 1982, с. 302.
13. Biery L. L., Anderson A. Arch. Biochem. Biophys., 1960, 30, 105.
14. Hochsthein P., Ernster L. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1963, 12, 388.
15. Lowry O. H., Rosebrough N. S., Farria A. L., Randall R. R. J. Biol. Chem., 1951, 193, 265.
16. Morimitsu, Nishihimi N., Appaji, Rao, Imenio Jagi. Biochem., Biophys. Res. Commun., 1972, 46, 3, 849.

УДК 615.276

Л. А. МАТИНЯН, Х. О. НАГАПЕТЯН, С. С. АМИРЯН, В. С. МИРЗОЯН,
Ш. В. ГРИГОРЯН, С. Р. МКРТЧЯН

ХАРАКТЕРИСТИКА ДИАДИНАМОФОРЕЗА ПАПАИНА ИЗ СРЕДЫ НЕВОДНОГО РАСТВОРИТЕЛЯ ДИМЕТИЛСУЛЬФОКСИДА (ДИМЕКСИД, ДМСО)

Изучена возможность проникновения папаина через неповрежденную кожу экспериментальных животных в условиях диадинамофореза. Достоверно показано, что димексид способствует резкому улучшению пенетрации папаина в толщу кожи и подлежащие ткани, приводя к значительному возрастанию концентрации папаина в глубоких слоях кожи.

В предыдущих наших исследованиях было показано, что растительный протеолитический энзимный препарат папаин под воздействием диадинамических токов (ДДТ) не разрушается, продолжительное время сохраняет активность и достаточно легко переносится через биологическую мембрану [3]. Эти данные послужили основанием для проведения экспериментальных исследований на животных по изучению глубины проникновения папаина в толщу кожи и подкожные ткани под воздействием ДДТ. Экспериментальные исследования показали, что папаин под воздействием ДДТ свободно проникает в толщу кожи и подкожные ткани до 2 мм и более продолжительное время сохраняет энзимативную активность, что указывает на перспективность применения папаина и других протеолитических энзимов посредством диадинамофореза (ДДФ) [3]. В наших исследованиях в качестве растворителя папаина использовали физиологический раствор. Однако в литературе имеются сообщения о том, что в качестве растворителя лекарств для электрофореза с целью ускорения их проникновения в толщу кожи и подлежащие ткани можно использовать и неводные растворители [2, 4]. Из большой группы неводных растворителей мы использовали димексид (ДМСО), который является биполярным растворителем, практически нетоксичен и обладает большой способностью проникать через неповрежденную кожу. Особенно ценным свойством димексида является способность транспортировать растворенные в нем вещества. Одновременно этот препарат обладает анальгезирующими, противовоспалительными свойствами, что делает его применение более це-

лесообразным [2]. В клинической практике димексид часто применяется в комбинации с другими антибактериальными препаратами (антибиотиками и др.). В этом аспекте большой интерес представляет сочетание димексид с протеолитическими ферментами. Бойко [1] наблюдал резкое возрастание противовоспалительных свойств фибринолизина при сочетании с 35% раствором димексид.

С учетом вышесказанного в наших исследованиях изучалась возможность применения димексид в сочетании с протеолитическим энзимом папаином. При изучении ферментативной активности папаина было показано, что 1—20% димексид (разведенный в физиологическом растворе) не оказывает отрицательного влияния на его активность. Учитывая эти данные, мы в наших исследованиях использовали 0,5% свежеприготовленный раствор папаина из среды 20% димексид. Для измерения активности папаина в качестве субстрата использовали гемоглобин, модифицированный пиридоксаль-5-фосфатом [5].

Материал и методы

Опыты проводились на 15 морских свинках массой 500—600 г. После удаления волосяного покрова с кожи межлопаточной области на нее накладывали две специальные лекарственные прокладки, смоченные: физиологическим раствором для контрольной группы животных (5 свинок), 0,5% свежеприготовленным раствором папаина, разведенном в физиологическом растворе, для животных I экспериментальной группы (5 свинок) и 0,5% свежеприготовленным раствором папаина из среды 20% ДМСО для животных II экспериментальной группы (5 свинок). Расстояние между прокладками составляло 25—30 мм. На прокладки помещались свинцовые пластинчатые электроды размером 20×20 мм, которые закреплялись резиновыми бинтами. Затем при помощи аппарата «СНИМ-1» подавали ток силой 5 мА, модулированный короткими периодами с изменением полярности через 5 минут (всего 10 минут). Сразу после завершения ДДФ животные наркотизировались нембуталом (40 мг/кг) и из зоны воздействия папаина брались кусочки кожи с подкожными тканями размером 100 мм² (по два куса из участка локализации каждого электрода, т. е. 20 кусочков по каждой серии) с последующим изготовлением срезов на замораживающем микротоме толщиной 0,35 мм. Затем в экстрагированной жидкости каждого среза определяли протеолитическую активность папаина по вышеуказанной методике.

Результаты и обсуждение

При изучении ДДФ папаина из среды димексид было установлено, что последний способствует резкому улучшению пенетрации папаина в толщу кожи и глублежащие ткани, приводит к значительному возрастанию концентрации папаина в глубоких слоях кожи. Эти данные, отраженные на рис. 1, свидетельствуют, что количество вводимого при помощи ДДФ папаина из среды димексид в глубинных слоях кожи намного выше (кривая 1), чем при введении папаина из среды физиологического раствора (кривая 2). На приводимых кривых видно, что наи-

большее количество папаина при ДДФ из среды димексида наблюдается на глубине 1—1,6 мм, тогда как при ДДФ из среды физиологического раствора наибольшее количество папаина наблюдается на глубине от 0,7 до 0,8 мм. Наименьшая ферментативная активность наблюдается в жидкости, экстрагированной из аналогичных контрольных (без папаина) срезов кожи (кривая 3).

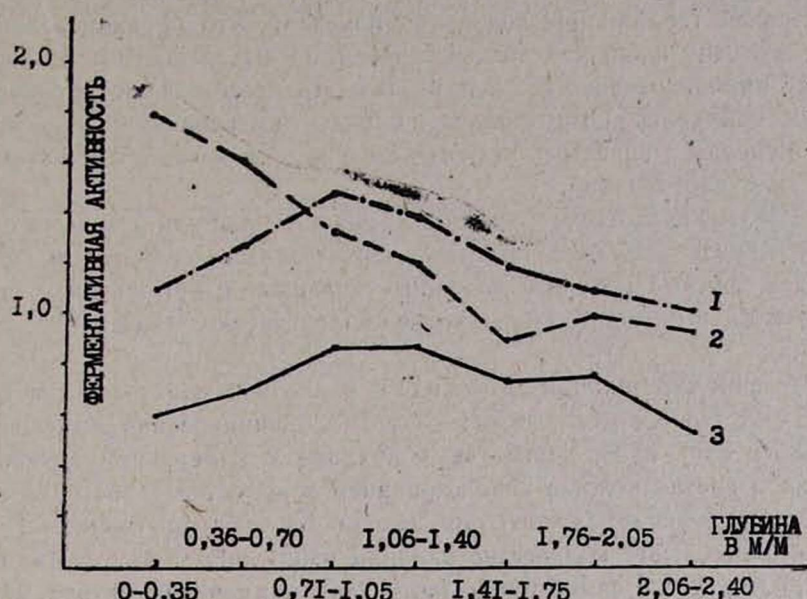


Рис. Энзимативная активность папаина на различных глубинах кожи и в подкожных тканях морских свинок при введении посредством ДДФ из среды димексида (1), физиологического раствора (2) по сравнению с контролем (3). На кривых представлены средние данные 20 экспериментов по каждой серии.

Учитывая данные литературы о том, что лекарства, введенные с помощью постоянного тока, образуют в толще кожи своеобразное депо, из которого в последующем они постепенно переходят в кровяное русло [4], для изучения содержания папаина в различных слоях кожи морских свинок в более поздние сроки после ДДФ папаина (через 24 часа и более) мы использовали наиболее тонкий и точный метод обнаружения димексида в слоях кожи — метод ядерно-магнитного резонанса (ЯМР) с высокой степенью разрешения и мощностью 100 мв/гц. Определение наличия димексида в исследуемых структурах может служить критерием для косвенного суждения о наличии папаина в них, так как исследование с помощью ЯМР показало, что молекула димексида достаточно прочно связывается с молекулой папаина и они переносятся под воздействием ДДТ во взаимосвязанном виде. Таким образом, определение количества димексида в слоях кожи методом ЯМР может служить критерием для косвенного суждения о наличии папаина в данных структурах.

Для этих целей из срезов кожи, сделанных на различной глубине, готовили суспензии одинакового объема с последующим измерением в них концентрации димексида (методом ЯМР).

Идентификация спектров папаина в среде димексида и чистого димексида при помощи ЯМР показала, что в поле постоянного тока спектр димексида не изменяется, т. е. он остается химически неизменным. Это говорит о том, что, повышая скорость проникновения папаина в толщу кожи, сам димексид остается активным препаратом, а это очень важно при их совместном применении в качестве противопалительной терапии. Исследования показали, что проникновение папаина в толщу кожи под воздействием ДДТ из среды димексида возрастает приблизительно в 2,5 раза. Все эти данные дают нам основание рекомендовать ДДФ папаина из среды димексида для клинического применения в качестве эффективного метода лечения гнойно-воспалительных заболеваний.

Эффективность такого сочетания может возрастать и в связи с тем, что димексид, обладая противоаллергическими свойствами, может подавить местные побочные реакции, связанные с применением протеолитических энзимов (боль, жжение, аллергические высыпания, отеки и др.).

Изучение содержания димексида в различных слоях кожи методом ЯМР показало, что данные относительно проникновения димексида в глубинные слои кожи полностью совпадают с измерением активности папаина в срезах кожи с использованием в качестве субстрата гемоглобина, модифицированного пиридоксаль-5-фосфатом (кривая 1, рис. 1). Так, наибольшее количество папаина наблюдается на глубине кожи в 1—1,6 мм, то же самое наблюдается при применении метода ЯМР в отношении димексида. Эти данные могут служить основанием для интерпретации возрастания эффективности папаина при наличии димексида, поскольку, как известно, белки подвергаются наиболее сильному протеолизу со стороны протеолитических энзимов, и в частности папаина, если ферменты находятся в денатурированном состоянии, как это имеет место при наличии димексида. Исходя из этого, следует полагать, что под воздействием димексида папаин также может подвергаться денатурации, поскольку он является белковым соединением. Однако, как показали биохимические исследования, ДМСО в концентрации 1—20% не влияет на ферментативную активность папаина. Это подтверждается и экспериментальными данными, связанными с диадинаморфетическим введением папаина из среды 20% ДМСО, тем более что такое применение, вероятно, может действовать как специфическое физико-фармакологическое сочетание. Необходимо отметить, что другие исследователи [1] димексид применяли и в более высоких концентрациях (35%) в сочетании с фибринолизинем, однако они не приводят данных относительно влияния этих доз препарата на фармакологическую активность использованного энзима.

Обобщая результаты приведенного экспериментального материала и данные их анализа, можно заключить, что наибольшее количество папаина при ДДФ из среды димексида наблюдается в толще неповрежденной кожи на глубине 1,1—1,6 мм, тогда как при ДДФ папаина из среды физраствора наибольшее количество папаина наблюдается на

глубине 0,2—0,8 мм. Таким образом, проникающая способность папаина в условиях ДДФ из среды ДМСО возрастает в среднем в 2—2,5 раза.

Институт физиологии
АН АрмССР

Поступила 7/1 1986 г.

Լ. Ա. ՄԱՏԻՆԻԱՆ, Խ. Հ. ՆԱՀԱՊԵՏԻԱՆ, Ս. Ս. ԱՄԻՐՅԱՆ, Վ. Ս. ՄԻՐԶՅԱՆ,
Շ. Վ. ԳՐԻԳՈՐԻԱՆ, Ս. Ռ. ՄԿՐՏՉԻԱՆ

**ՊԱՊԱԻՆԻ ԴԻԱԴԻՆԱՄՓՈՐԵՏԻ ԲՆՈՒԹԱԳՐԵՐԸ ԱՆՋՈՒՐ ԼՈՒՄԻՉ
ԴԻՄԵԹԻԼՍՈՒԼՖՈՔՍԻԴԻ (ԴԻՄԵՔՍԻԴ, ԴՄՍՕ) ՄԻՋԱՎԱՅՐԻՑ**

Մովախողովների վրա ուսումնասիրված է պրոտեոլիտիկ ֆերմենտային դեղամիջոց՝ պապաինի մաշկի տարբեր խորություններ և ենթամաշկային հյուսվածքներ թափանցելու հնարավորությունը դիադինամոֆորեզի պայմաններում անտիսեպտիկ դիմեքսիդի միջավայրից:

Նուրբ բիոբիմիական և ֆիզիկո-քիմիական մեթոդների կիրառմամբ ապացուցված է, որ պապաինի ամենամեծ խտությունը դիադինամոֆորեզի պայմաններում դիմեքսիդի միջավայրից հայտնաբերվում է ծովախողովների չվնասված մաշկում 1—1,6 մմ խորության վրա, իսկ նրա թափանցելիությունն այդ պայմաններում աճում է 2—2,5 անգամ: Պապաինի դիադինամոֆորեզի պայմաններում, երբ այն լուծված է ֆիզիոլոգիական լուծույթում, ֆերմենտի ամենամեծ քանակությունը հայտնաբերվում է 0,2—0,8 մմ խորության վրա:

L. A. MATINIAN, Ch. H. NAHAPETIAN, S. S. AMIRIAN, V. S. MIRZOYAN,
SH. V. GRIGORIAN, S. R. MKRTCHIAN

**CHARACTERISTICS OF PAPAIN DIADINAMOPHORESIS FROM THE
MEDIUM OF NON-AQUEOUS SOLVENT OF DIMETILSULPHOCIDE
(DIMEXIDE, DMSO)**

The possibility of proteolytic enzyme penetration of papain preparation into various depths of guinea-pigs in conditions of diadinamophoresis from the antyseptic dimecside medium has been established. The highest concentration of papain during diadinamophoresis from dimecside medium is determined at the depth of 1—1,5 mm of undamaged guinea-pig skin. Under papain diadinamophoresis diluted in physiological solution its largest amount is found at the depth of 0,2—0,8 mm.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Бойко Н. И. Клиническая хирургия, 1979, 1, стр. 64.
2. Даниленко М. В., Туркевич Н. М. В кн.: Клиническое применение димексид. Киев, 1976, с. 86.
3. Матинян Л. А., Нагапетян Х. О., Амирян С. С., Мирзоян В. С., Мкртчян С. Р. Физиологические характеристики диадинамофореза папаина. ДАН АрмССР (в печати).
4. Улащик В. С. В кн.: Физико-фармакологические методы лечения и профилактики. Минск, 1979, с. 223.
5. Akopian T. N., Barchudaryan N. A., Arutjunyan A. A., Lejta A., Galoyan A. A. J. Neurol. Res., 1974, 4, 365.