

А.В. Максимов, В.В. Кирьянова, К.В. Казанцева

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова,
Санкт-Петербург, Россия

Ключевые слова: препарат Ферменкол, коллаген, коллагеназа, подвижность препарата в электрическом поле, изoeлектрическая точка, эффективность электрофореза.

Резюме. Изучали подвижность в электрическом поле препарата Ферменкол. Ферменкол является комплексным полипептидным препаратом, полученным из тканей гидробионтов. Содержит комплекс из 9 коллагенолитических протеаз с молекулярной массой полипептидных компонентов от 20 до 100 кДа. Обладая высокой коллагенолитической активностью, Ферменкол применяется в лечебной практике для лечения (коррекции) гипертрофических и келоидных рубцов. Дано обоснование терапевтической методики электрофореза препарата Ферменкол, отработаны оптимальные параметры.

Введение

Механизм введения лекарственных веществ при лечебном электрофорезе электрогенный, т. е. их перемещение в электрическом поле и введение в покровы тела должно происходить по градиенту электрического потенциала. Электрогенное введение повышает доставку лечебных и биологически активных веществ в область патологического очага (в том числе рубца) на 1–2 порядка по сравнению с пассивной диффузией. Следует подчеркнуть, что применительно к препарату Ферменкол®

электрогенный механизм введения в организм до настоящего времени являлся гипотетическим. Лабораторные исследования, подтверждающие перемещение компонентов препарата Ферменкол® в электрическом поле, не проводились. Клинические исследования не выполнялись.

Известна эмпирическая практика сочетанного применения раствора порошка Ферменкол® в препарате Солактин® с воздействием постоянного непрерывного электрического тока. Такую методику до настоящего времени было принято называть лечебным электрофорезом Ферменкола®. При этом препарат Ферменкол® наносится на подэлектродную прокладку электрода, присоединенного к терапевтическому разъему аппарата гальванизации, включается электрическое напряжение. Это имитирует процедуру лечебного электрофореза. Длительные катamnестические наблюдения указывают на то, что результаты лечения рубцов кожи улучшаются при воздействии препаратом Ферменкол® в сочетании с постоянным непрерывным током. Указанные наблюдения можно *a priori* объяснить тем, что физическое воздействие постоянным током (гальванизация) всегда увеличивает проницаемость кожного барьера для веществ эк-

зогенного происхождения, повышает интенсивность простой диффузии веществ, в том числе полипептидов через эпителиальные покровы. Усиление диффузии веществ через покровы тела при воздействии на них гальваническим током не следует приравнивать к электрогенному переносу веществ, т. е. к лечебному электрофорезу.

Целью исследования явились обоснование возможности введения препарата ферменкол в организм человека при помощи постоянного тока и разработка метода лечебного электрофореза препарата. Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие задачи:

- Обоснование возможности введения полипептидов из раствора препарата лиофильно высушенный порошок Ферменкол® в организм человека при помощи постоянных токов.
- Обоснование возможности введения полипептидов из препарата гель Ферменкол® в организм человека при помощи постоянных токов.
- Разработка методики лечебного электрофореза гальваническим током полипептидов из раствора препарата лиофильно высушенный порошок Ферменкол®.
- Разработка методики лечебного электрофореза диадинамическим током полипептидов из раствора препарата лиофильно высушенный порошок Ферменкол®.
- Разработка методики лечебного электрофореза из препарата гель Ферменкол®.
- Разработка методики лечебного электрофореза диадинамическим током из препарата гель Ферменкол®.

Лечебный электрофорез возможен только применительно к веществам, растворимым в электропроводных средах (вода, спирт в смеси с водой). Из трех лечебных форм препарата Ферменкол® к таковым относятся раствор лиофильно высушенного порошка в препарате Солактин® и гель Ферменкол®.

Нами научно обоснована возможность лечебного электрофореза двух лечебных форм препарата Ферменкол®:

- лиофильно высушенного порошка Ферменкол®, растворенного в препарате Солактин®;
- геля Ферменкол®.

Результатом явилась разработка практических методик лечебного электрофореза.

Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие задачи:

1. Определить электропроводность лечебных форм препарата Ферменкол®:
 - 1.1.) раствора препарата Ферменкол® в растворителе Солактин®;
 - 1.2.) Препарата Ферменкол® в виде геля.
2. Оценить подвижность в электрическом поле полипептидов препарата Ферменкол® в виде раствора лиофильно высушенного порошка Ферменкол® в растворителе Солактин® по показателю электрогенного массопереноса полипептидов.

Определить условную «изoeлектрическую точку» раствора Ферменкол® по показателю минимального массопереноса полипептидов.

Подобрать оптимальное значение pH растворителя, обеспечивающее максимальный массоперенос препарата.
3. Оценить подвижность в электрическом

поле полипептидов препарата Ферменкол® в виде геля по показателю электрогенного массопереноса полипептидов.

Определить условную «изоэлектрическую точку» геля Ферменкол® по показателю минимального массопереноса полипептидов.

Подобрать оптимальное значение pH растворителя, обеспечивающее максимальный массоперенос препарата.

Материалы и методы исследования

Предварительный этап исследования:

На предварительном этапе исследования определялись электропроводность раствора препарата Ферменкол® в растворителе Солактин®, а также электропроводность препарата Ферменкол® в виде геля. Использовался капиллярный тест определения электропроводности.

Для определения электропроводности раствора препарата Ферменкол® в растворителе Солактин® капилляр диаметром 3 мм наполнялся рабочим раствором препарата Ферменкол® в растворителе Солактин®, запаивался парафином с обеих апертур, в апертурах капилляра фиксировались игольчатые электроды. К разъемам игольчатых электродов присоединялись разъемы терапевтических токоподводов аппарата для гальванизации «Поток-1». На электроды подавалось электрическое напряжение плавным вращением потенциометра. Диапазон силы тока – до 50 мА. При выведении потенциометра по часовой стрелке до половины амплитуды вращения его ручки миллиамперметр регистрировал силу тока 50 мА.

Таким образом, электропроводность рас-

творителя препарата Ферменкол® в растворителе Солактин® была подтверждена.

Для определения электропроводности препарата Ферменкол® в виде геля капилляр диаметром 3 мм наполнялся гелем Ферменкол®, запаивался парафином с обеих апертур, в апертурах капилляра фиксировались игольчатые электроды. К разъемам игольчатых электродов присоединялись разъемы терапевтических токоподводов аппарата для гальванизации «Поток-1». На электроды подавалось электрическое напряжение плавным вращением потенциометра. Диапазон силы тока до 50 мА. При выведении потенциометра по часовой стрелке до половины амплитуды вращения его ручки миллиамперметр регистрировал силу тока 50 мА.

Таким образом, электропроводность геля препарата Ферменкол® была подтверждена.

Основной этап исследования:

На основном этапе исследования изучали подвижность в электрическом поле двух лечебных форм препарата Ферменкол® по показателю электрогенного массопереноса полипептидов.

Препарат в виде раствора в растворителе Солактин®

В основных пробах изучали электрофоретическую подвижность препарата Ферменкол® (U=500 В), а в контрольных пробах изучали диффузию полипептидов препарата (U=0 В) в камерной установке для аналитического электрофореза. Для получения раствора использовался штатный растворитель Солактин® при значениях pH растворителя 4,2; 4,6; 5,0; 5,4; 5,8; 6,2; 6,6; 7,0; 7,4; 7,8; 8,2; 8,6; 9,0.

Состав растворителя Солактин®: калия хлорид – 0,2%, кальция хлорид – 0,1%, хлоргексидин – 0,1%, ипидакрин – 0,000005%, кислоты хлороводородная – 0,00035%. Слабый солевой состав обеспечивает стабильность раствора, ионы Ca^{2+} препятствуют перекрестному гидролизу полипептидных протеаз. Молекулы хлоргексидина и ипидакрина электрически нейтральны и не перемещаются в электрическом поле.

Подкисление растворителя осуществляется при помощи 0,1 N раствора HCl, а подщелачивание при помощи 0,1 N раствора NaOH. Определение pH растворителя осуществляется при помощи pH-метра или универсальной индикаторной бумаги с высокой чувствительностью. Время экспозиции в основных пробах (электрофорез) и контрольных пробах (диффузия) 300 мин.

Концентрацию полипептидов в пробах определяли микрореакцией О.Н. Lowry в модификации М.Я. Малаховой.

В результате проведенных исследований установлено, что минимальный массоперенос полипептидов препарата Ферменкол® (условная изоэлектрическая точка) имеет место при pH 7,8. При данном значении кислотности среды различия концентрации полипептидов в приемной камере в основных и контрольных пробах были минимальными.

Оптимальная полярность активного электрода положительная (в пробах с pH менее 7,8 массоперенос препарата был выше, чем в сопоставимых пробах с pH более 7,8).

Наибольшая эффективность электрофореза имеет место при слабокислой реакции среды,

причем максимальный массоперенос вещества наблюдался при pH 5,4–5,8.

Таким образом, лабораторный этап наших исследований показал, что наименьший массоперенос полипептидов раствора препарата Ферменкол® (условная «изоэлектрическая точка») находится в слабощелочной зоне и соответствует величине pH 7,8, наибольший массоперенос имеет место при слабокислой реакции раствора (pH 5,4–5,8). Оптимальная полярность активного электрода – анод.

Препарат в виде геля

В основных пробах изучали электрофоретическую подвижность геля Ферменкол® (U=500 В), а в контрольных пробах изучали диффузию полипептидов препарата (U=0 В) в камерной установке для аналитического электрофореза. pH геля доводили до значений 4,2; 4,6; 5,0; 5,4; 5,8; 6,2; 6,6, при помощи 0,1 N раствора HCl, и до значений 7,4; 7,8; 8,2; 8,6; 9,0 при помощи 0,1 N раствора NaOH. Определение pH водной основы геля осуществлялось при помощи универсальной индикаторной бумаги высокой чувствительности. Время экспозиции в основных пробах (электрофорез) и контрольных пробах (диффузия) 300 мин.

Концентрацию полипептидов в пробах определяли микрореакцией О.Н. Lowry в модификации М.Я. Малахова.

В результате проведенных исследований установлено, что минимальный массоперенос полипептидов геля Ферменкол® (условная изоэлектрическая точка) имеет место при pH 7,8–8,2. При таких значениях кислотности геля различия концентрации полипептидов в приемной камере в основных и контрольных

пробах были минимальными.

Оптимальная полярность активного электрода положительная (в пробах с pH менее 7,8 массоперенос препарата был выше, чем в сопоставимых пробах с pH более 8,2).

Наибольшая эффективность электрофореза имеет место при слабокислой реакции среды, причем максимальный массоперенос вещества наблюдался при pH 5,4.

Таким образом, лабораторный этап наших исследований показал, что наименьший массоперенос полипептидов препарата Ферменкол® в виде геля (условная «изоэлектрическая точка»), так же как и у раствора Ферменкол®, полученного из лиофильно высушенного порошка, находится в слабощелочной зоне и соответствует величине pH 7,8, наибольший массоперенос имеет место при значении pH геля 5,4, а оптимальная полярность активного электрода – анод.

Биологически активные составляющие препарата Ферменкол являются полипептидами. По своей биофизической природе полипептиды относятся к веществам амфолитного ряда (перемещаются в электрическом поле как в сторону анода, так и в сторону катода в зависимости от pH среды). При определенном среднем значении pH молекула полипептида остается неподвижной в электрическом поле (изоэлектрическая точка). Для эффективного введения в организм препаратов полипептидной природы необходим подбор оптимального значения pH среды, при котором обеспечивается наибольший электрогенный массоперенос лекарственного вещества в электрическом поле. Выявление оптимального значения pH

среды, при котором обеспечивается наибольшая эффективность электрофореза, определяет полярность активного электрода. Пренебрежение этими принципиальными методическими установками приводит к понижению или нулификации эффективности лечебного электрофореза.

Установлено, что минимальный массоперенос полипептидов препарата Ферменкол (условная «изоэлектрическая точка») соответствует pH 8,7. При данном значении кислотности среды концентрация полипептидов в приемной камере в основных и контрольных пробах практически не различалась.

Оптимальная полярность активного электрода положительная (в пробах с pH менее 7,0 массоперенос препарата был выше, чем в сопоставимых пробах с pH более 7,0).

Наибольшая эффективность электрофореза имеет место при слабокислой реакции среды, причем наибольший массоперенос вещества происходит при pH 5,4–5,8.

Таким образом, лабораторный этап наших исследований показал, что «изоэлектрическая точка» препарата Ферменкол сдвинута в щелочную сторону и соответствует величине pH 8,7, наибольший массоперенос обнаруживается при слабокислой реакции раствора (pH 5,4–5,8), оптимальная полярность активного электрода – анод.

Закключение: исходя из полученных результатов, нами разработана методика лечебного электрофореза препарата ферменкол. Содержимое флакона (100 мг, т. е. 350 ПЕ) растворяется в 5 мл дистиллированной воды, подкисляется 0,1 N соляной кислотой (4–5 капель)

до значения pH 5,4–5,8. Раствор наносится на лекарственную прокладку, которая помещается под гидрофильную прокладку лечебного электрода-анода. Для повышения эффективности электрофореза (увеличения количества введенного в покровы тела препарата карипазим) в качестве растворителя может быть использован 20% димексид (4 мл дистиллированной воды в смеси с 1 мл димексида).

Электрофорез гальваническим током проводится при плотности тока 0,1–0,15 мА/см², при этом у пациента должно возникать субъективное ощущение приятного равномерного покалывания, приятного жжения под электродами пластинами и не должно быть дискомфортных ощущений. Время от 15 до 30 мин, увеличивается по 2 мин через процедуру. Курс 10–12 процедур (при грыжах межпозвонковых дисков – до 20 процедур), проводимых ежедневно или через день.

Методики лечебного электрофореза.

Исходя из полученных результатов, нами разработаны методики лечебного электрофореза препарата Ферменкол®.

Дозирование раствора препарата Ферменкол® В ампуле препарата Ферменкол® содержится лиофильно высушенный порошок в количестве 4 мг. Препарат растворяется в специальном растворителе Солактин®. Количество препарата, применяемое в методике лечебного электрофореза, невелико и его конечная концентрация низкая. Это обусловлено тем, что ферменты оказывают коллагенолитическое воздействие в ничтожно малых дозах.

При грубых рубцах (ГР), возраст которых не превышает 4–5 месяцев, применяются ма-

лые количества и низкие концентрации препарата – 0,1–0,2 мг/мл. Коллагеновые волокна ГР обычно имеют вихревую конфигурацию распределения, плотность их укладки невысокая, что обеспечивает возможность быстрого и равномерного пропитывания ферментом в рубцов и спаек. Рубцы с вихревой конфигурацией коллагена имеют плотные узлы в ткани рубца. Объем рубцовой ткани в результате лечения быстро уменьшается.

В грубых рубцах давнего происхождения нередко коллаген, помимо вихревой конфигурации, формирует очаги узловой конфигурации. В этих узлах волокна коллагена располагаются более плотно. Узлы коллагена имеют разный калибр и находятся на различной глубине (в верхних и глубоких слоях дермы). Подобные рубцы труднее инфильтрировать раствором коллагеназы. Ферменты воздействуют только на поверхностную часть такого узла. В ходе лечения наблюдается постепенное уменьшение размеров рубца, поэтому при лечении более старых и плотных рубцов целесообразно увеличить концентрацию препарата (до 0,5 мг/мл и выше). Более высокие концентрации необходимы для лечения келоидных рубцов (КР) и плотных грубых рубцов с плотной («узловой» укладкой коллагена).

Коллагенолитическая терапия характеризуется поздними и отдаленными эффектами. Пациенту следует настойчиво разъяснить (особенно при наличии рубцов с узловой формой укладки коллагена) причины необходимости длительного применения электрофореза коллагенолитических протеаз.

Расчет необходимого объема раствора сле-

дующий. На 1 см² рубца для проведения процедуры требуется приблизительно 0,5 мл раствора Ферменкол®, что составляет от 0,05 до 0,25 мг. Раствор препарата Ферменкол® с выбранной концентрацией ферментов наносится на лекарственную прокладку, состоящую из 4–6 слоев марли или фильтровальной бумаги.

Лечебным электродом является анод, электродная прокладка катода смачивается проточной водой или изотоническим раствором натрия хлорида. Плотность тока не более 0,2 мА/см² при локализации рубца на туловище или конечностях и не более 0,05 мА/см² при локализации рубца на лице.

Дозирование геля препарата Ферменкол®

Дозирование геля осуществляется исходя из конечной концентрации в нем коллагеназ. При ГР с вихревой укладкой нитей коллагена требуется 0,5 г геля (0,05 мг коллагеназ) на см² поверхности рубца. Для лечения КР и плотных ГР с плотной («узловой» укладкой коллагена) требуется большее количество геля – до 2 г геля на см² поверхности рубца.

Перед проведением процедуры кожу в области рубца распаривают с целью мацерации рогового слоя эпидермиса для повышения резорбтивной способности. Гель наносят на рубец и поверхность кожи по периметру и втирают шпателем. Спустя 15–20 мин значительная часть геля всасывается в кожу, на терапевтическое поле помещают гидрофильную прокладку, смоченную проточной водой.

Лечебным электродом является анод, электродная прокладка катода смачивается проточной водой или изотоническим раствором натрия хлорида. Плотность тока не более

0,1 мА/см² при локализации рубца на туловище или конечностях и не более 0,05 мА/см² при локализации рубца на лице.

Продолжительность процедуры при применении раствора и при применении геля составляет от 15 до 30 мин, постепенно увеличиваясь к 5-й процедуре.

Длительность курса лечебного электрофореза ферменкола при недавно возникших ГР – 10–15 процедур, проводимых через день или 4 раза в неделю. При КР и давно существующих ГР курсовая доза может быть повышена до 20 процедур. Повторные курсы проводятся не ранее, чем через 2 месяца.

Методика № 1

Содержимое флакона (4 мг порошка) растворяется в штатном растворителе Солактин до конечной концентрации 0,1–1 мг/мл. Конечная концентрация препарата Ферменкол в растворителе Солактин подбирается исходя из свойств рубца (степень гипертрофии рубцовой ткани, давность возникновения, активность развития). Раствор Ферменкола подкисляется до значения pH 5,4–5,8 0,1 N раствором соляной кислоты под контролем универсальной индикаторной бумаги высокой чувствительности. Раствор наносится на лекарственную прокладку, состоящую из 4–6 слоев марли или фильтровальной бумаги, которая помещается под гидрофильную прокладку лечебного электрода-анода. Электрод-катод размещается по поперечной, поперечно-диагональной или продольной методике.

При использовании геля применяется методика № 2.

Методика № 2.

Для повышения эффективности электрофореза (увеличения количества введенного в покровы тела препарата Ферменкол®) в раствор с выбранной концентрацией с pH 5,4–5,8 может добавляться растворитель димексид до конечной концентрации 20%.

Электрофорез гальваническим током проводится при значении плотности тока до 0,1–0,15 мА/см² (при воздействии на тело) или до 0,05–0,06 мА/см² (при воздействии на лицо и шею). Необходимая сила тока вычисляется по площади гидрофильной прокладки, которая больше электродной пластины – выступает на 1–1,5 см по ее периметру – путем умножения величины плотности тока на площадь прокладки электрода. Однако истинным критерием при дозировании силы тока является возникновение у пациента ожидаемых субъ-

ективных ощущений приятного равномерного покалывания и жжения под электродами, которые раньше возникают и наиболее выражены под отрицательным электродом (катодом).

Неприятных или болевых ощущений у пациента под электродами возникать не должно. При их возникновении следует проверить равномерность прилегания электрода к телу. Силу тока увеличивают плавным вращением ручки потенциометра. По окончании процедуры силу тока плавно понижают до нуля, после чего лечебные электроды снимают с тела пациента. Время процедуры от 15 до 30 мин, увеличивается по 2 мин через процедуру. Курс 10–20 процедур, проводимых ежедневно или через день.

© Коллектив авторов, 2012

Литература

1. *Кириянова В.В.* Гальванизация и лекарственный электрофорез // Нефармацевтическая медицина. – 2005. – № 1. – С. 9.
2. *Малахова М.Я.* Метод регистрации эндогенной интоксикации: Пособие для врачей. – СПб., 1995.
3. *Улащик В.С.* Теория и практика лекарственного электрофореза. – Минск: Беларусь, 1976. – 207 с.
4. *Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L. et al.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol.Chem. – 1951. – Vol. 193. – P. 265–275.