

МАЛ, АМЬТНЫ ПАРАЗИТЫН ЭСРЭГ ФОТОДИНАМИК ЭМЧИЛГЭЭНИЙ АРГЫГ ТУРШИН СОРИХ НЬ

Б.Баярмаа¹, Б.Бат-Эрдэм², Б.Батцэцэг³

1-ХААИС, Шинжлэх ухааны зөвлөл
2-МУИС, Биологи, биотехнологийн сургууль
3-МЭХ, Молекул генетикийн лаборатори

ХУРААНГУЙ

Фотодинамик эмчилгээний (ФД) аргыг мал, амьтны паразитын эсрэг боломжит шинэ арга болгон туршсан нь эзэн амьтан ба байгаль экологид хор хөнөөлгүй эмчилгээний шинэ аргын анхдагч судалгаа явагдаж, цаашид судалгааны ажлыг өргөжүүлж, мал эмнэлгийн практикт нэвтрүүлэх боломжтой юм хэмээн үзэж байна.

ТҮЛХҮҮР ҮГ: Фотодинамик эмчилгээ, дан молекулт хүчилтөрөгч

ОРШИЛ

Фотодинамик эмчилгээ (ФДЭ) гэдэг нь тодорхой гэрлийн долгионы уртад идэвхжих эмийн бодис фотосенситайзерыг гэрлээр шарж идэвхжүүлснээр фотохимийн урвал явагдаж, түүний дүнд идэвхт үйлчлэгч бодис дан молекулт хүчилтөрөгч 1O_2 / бий болж эмгэгтөрүүлэгчдийг устгадаг эмчилгээний нэгэншинэ арга юм.

ФДЭ-г бактер, вирус, мөөгөнцөр, паразитын халдварын эсрэг ашиглаж болохыг судалгаагаар тогтоожээ (1).

Бактери болон бусад нянгийн халдварыг ФДЭ-ээр устгах нь ердийн антибиотик эмчилгээнээс дасал болдоггүйгээрээ онцлог бөгөөд сенситайзеруудын фотодинамик идэвх нь тэдгээр нэгдлүүдийн химийн бүтцээс ихээхэн хамаарна.

Зарим судалгаагаар 4-мезо N-метил пиридилын халагчтай катионик порфирин ба тетракатионик Zn(II)-фталоцианин нь 600-700 нм долгионы уртад *Acanthamoeba palestinensis*-ын цист ба вегетатив эсийг(2,3), мероцианин-540, N-(4-бутанол)феофорбайдын уламжлалаар *Plasmodium falciparum*, *Babesia divergens* зэрэг цусны паразитуудыг (2,3), гематопорфирин ба хөнгөн цагааны сульфонт фталоцианинаар чага өвчний үүсгэгч *Trypanosoma cruzi*-г (4), хөнгөн цагаан (III) ба цайрын (II) фталоцианинээр *Leishmania*-н промастиготыг (5) тус тус фотоидэвхгүйжүүлж байв.

Alouini Z.нарын судалгаагаар бохир усан дахь хүний цагаан хорхойн өндөгийг катионик *meso*-фталоцианин бүхий ФДЭ-ээр үйлчлүүлэн идэвхгүйжүүлсэн байна (6).

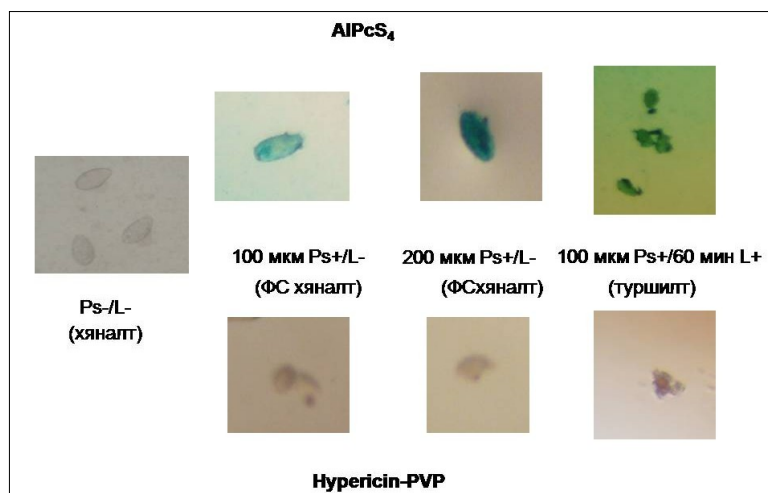
АЖЛЫН ХЭМЖЭЭ, АРГА ЗҮЙ

Паразитын эсрэг фотодинамик идэвхийг органик тетра-сульфонат хөнгөн цагааны фталоцианин, $AlPcS_4$, $\lambda=670$ нм/ ба байгалийн гаралтай поливинилпирролидон, PVP-гиперицин, $\lambda=593$ нм/ фотосенситайзераар трематодын өндөг ба туулайн чихэнд суулгасан хачгийг үйлчилж 600-700 нмLED гэрлээр шарж тодорхойлов.

ҮР ДҮН

Фотодинамик идэвхийг трематодын өндгөн дээр тодорхойлох

Трематодын өндгийг цэврээр ялган авч, 4-6 тооны өндөгийг 200 мкл шингэн орчинд 50, 100, 200 мкмоль бүхий PVP-гиперицин болон $AlPcS_4$ бодисуудаар 30, 45, 60 минутын турш тус тус $37^{\circ}C$ хэмийн харанхуй орчинд үйлчлүүлэв. Цаг болмогц өндгүүдийг усаар зайлж, 600~700 нм LED гэрлээр 15, 30, 60, 120 минутын турш шарна. Шарсаны дараагаар хавтанг тасалгааны хэмд нэг хонуулаад өндгийг микроскопоор ажиглав. Хяналтад ФДЭ-ээр огт үйлчлээгүй өндөг (Ps-/L-), бодисын хяналт (Ps+/L-) болгож дан 50, 100, 200 мкмоль бүхий бодис ба гэрлийн хяналт (Ps-/L+) болгож дан гэрлээр үйлчлэв.



1-р зураг. Усан орчинд буй трематодын өндөгийг AlPcS₄ ба PVP-гиперицин бүхий ФДЭ-р үйлчилсэн байдал

24 цагийн дараа хавтанг шалгахад PVP-гиперицин ба AlPcS₄ фотосинтетайзер бодисоор туршилтын трематодын өндөгнүүд бүгд будагдаж, эс задарсан байдалтай байв. Хяналтын (Ps-/L-) ба гэрлийн хяналт (Ps-/L+) -ын өндөгнүүдэд ямарч өөрчлөлт ороогүй байсан бол бодисын хяналт (Ps+/L-) -ын өндөгнүүд бодисын түвшрүүлэг ихсэх тусам будалт илүү тод байсан ба хэлбэр, дүрсэнд ямар нэг өөрчлөлт ороогүй байв. Үр дүнг тооцоход 100 мкмоль PVP-гиперицин болон AlPcS₄ бодисоор үйлчилж, 60 мин турш шарахад хамгийн өндөр үр дүнг өгөв. Үр дүнг харьцуулсан байдлаар зураг 1-р үзүүлэв.

Фотодинамик идэвхийг туршилтын амьтан дээр тодорхойлох

Хачиг мал, амьтанд асаж байх үеийг туулайн чихийг хачгаар халдварлуулсны дараах 1 хоногтойд, хачиг суусан үеийг хачгаар халдварлуулсны дараах 3

хоногтойд төлөөлүүлэн тус тус хачигны эсрэг фотодинамик идэвхийг тодорхойлов.

Хачигаар халдварлуулсны дараах 1 хоногт – Хачиг асаж байх үе

Туулайн хоёр чихэнд ижил тооны (10) хачиг суулгаж, туулайн зүүн чихийг хяналт болгон баруун чихэнд хачиг суулгасны дараах хоногт 2 мл 100, 200, 400 мкмоль PVP-гиперицин болон AlPcS₄ бодисуудыг тус тус чихний гадаргууд жигд цацаж, 600~700 нм гэрлийн долгины урттай LED гэрлээр 60, 90 минутын турш шарж, 24 цаг гэрлийн хязгаарлагдмал нөхцөлд байлгав. Эмчилгээ хийсний дараах өдөр хяналтын зүүн чихэнд хачиг ихээр суусан байсан бол туршилтын баруун чихэнд 200 мкмоль AlPcS₄ бодисоор үйлчилж 60 мин турш гэрлээр шарсан туршилтаар хачиг суугаагүй байв.



2-р зураг. Хачиг суулгасны дараах 1 хоногт хийсэн ФДЭ-ний үр дүн

Хачигаар халдварлуулсны дараах 3 хоногт – Хачиг суусан үе

Туулайн хоёр чихэнд тус бүр 8 хачиг суулгасны дараах 3 хоногт туулайн баруун чихийг хяналт (Ps-/L-), зүүн чихийг туршилт (Ps+/L+) болгон авч, 2 мл 100, 200, 400 мкмоль PVP-гиперицин болон AlPcS₄ фотосенситайзеруудыг чихний гадаргууд жигд цацав. Турван цаг байлгасны дараагаар 600~700 нм

гэрлийн долгины урттай LED гэрлээр 60, 90 минутын турш шарж, харанхуй нөхцөлд хонуулав. Хяналтын чихэнд хачиг суусан хэвээр байсан бол эмчилгээ хийсний дараах хоногт зүүн чихний гадна талд суусан хачигнууд бүгд унасан, харин дотор талд нэг хачиг байсан нь шарлага тэр хэсэгт хангалттай явагдаагүй гэж үзэв.



3-р зураг. Хачиг суулгасны дараах 3 хоногтойд ФДЭ-р үйлчилсэн үр дүн

ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ

Бичил биетэн, мөөгөнцөр, вирус, паразит нь орчин үеийн эмчилгээний аргууд, антибиотик болон бусад эмүүдэд дасал болж байгаатай холбогдуулан эдгээрийн эсрэг үр дүнтэй эмчилгээний аргыг боловсруулах нь зүйн хэрэг юм (7). Иймд гэрэл мэдрэг бодисыг ашиглан түүнийг тодорхой долгионы урттай гэрлээр идэвхжүүлснээр эмгэгтөрүүлэгчийг устгах боломжтой болох нь судалгаагаар тогтоогдоод байна. Судалгаагаар фотодинамик эмчилгээний аргаар бохир усан дахь хүний цагаан хорхойн өндөгийг катионик *meso*-фталоцианин бүхий ФДЭ-ээр идэвхгүйжүүлж, эмчилгээ хийсний дараа нэг литр бохир усан дахь бүтэн өндөгний тоо буурч, микроскопоор шинжлэхэд өндөгний бүтцэнд морфологийн болон өндөгний хэмжээ багасах зэрэг өөрчлөлтүүд илэрсэн байна(6). Бидний судалгаагаар трематодын өндөгнүүд бүгд PVP-гиперицин ба AlPcS₄ бодисуудаар будагдаж, түвшрүүлэг ихсэх тусам будалт илүү тод байсан нь эдгээр бодис өндөгний ханаар нэвчих чадвартай болох нь харагдав. Өндгийг 24 цагийн дараа шалгахад бүрэн задраагүй ч морфологийн хувьд хувиралтад орох, өндөгний гадна бүрхүүлийн хэлбэр алдагдах, цаашлаад өндөг бага зэрэг задарсан нь бусад судлаачдын ажилтай ижил төстэй үр дүнг өгөв. Хяналтын (Ps-/L-) ба гэрлийн хяналт (Ps-/L+)-ын өндөгнүүдэд ямарч өөрчлөлт ороогүй бол бодисын хяналт (Ps+/L-)-ын өндөгнүүд жигд будагдсан ба хэлбэр, дүрсэнд ямар нэг өөрчлөлт ороогүй байв.

Эндээс харахад уг аргаар хаягдал усыг халдваргүйжүүлэн усыг цэвэршүүлэх арга болгон ашиглах боломжтой бөгөөд өөр салбарт ч мөн хэрэгжүүлэхэд аюулгүй тохиромжтой арга болж болно. Фотодинамик технологийг бичил биетнийг устгах, ялангуяа аливаа гадаргууг ариутгах (8), цус, цусан бүтээгдэхүүнийг халдваргүйжүүлэхэд (9,10) ашиглах боломжтойгоос гадна элдэв шарх, яр, түлэгдэлт зэргийг эмчлэх боломжтой (11) бөгөөд түүний давуу тал нь эзэн эдэд гэмтэл учруулалгүйгээр хэсэг газар нөлөөлөх сонгомол үйлчилгээтэй юм (1,7,8).

Дээрхи судалгааны үр дүнгүүд зарим эгэл биетнүүдээр үүсдэг мал амьтны зарим өвчнийг анагаахад уг аргыг өргөн ашиглаж болохыг харуулж байгаа ч гадна паразитын эсрэг туршсан судалгааны ажлын талаархи мэдээлэл одоогоор олдоогүй бөгөөд хачигны эсрэг фотодинамик аргыг анх удаа туршсан нь сонирхолтой үр дүнг өгөв. Хачиг мал, амьтанд асаж байх үеийг төлөөлүүлэн туулайн чихийг хачгаар халдварлуулсны дараах 1 хоногтойд, хачиг суусан үе буюу хачигаар халдварлуулсны дараах 3 хоногтойд туршихад туршилтын чихэнд суусан хачигнууд бүгд унасан бол хяналтын чихэнд хачиг хэвээр байв.

Хяналтын ба туршилтын унасан хачгуудыг харьцуулан ажиглахад фотодинамик эмчилгээ хийсэн хачигны биеийн хэмжээ жижгэрсэн нь фотоурвалын дүнд бий болж буй нэгдлүүд хачигинд нөлөөлж идэвхгүйжүүлж байна хэмээн үзэх үндэслэлтэй бөгөөд чихэнд элдэв шарх, яр, улайлт ажиглагдаагүй

нь эзэн амьтанд ямар нэг сөрөг нөлөөгүй болох нь харагдаж байна. Ийнхүү дээрх судалгаагаар гэрэл мэдрэгч эмийн бодисыг сонгомол байдлаар хэсэг газар хэрэглэн зөвхөн тухайн хэсэгт л шарлагыг явуулснаар

хүрээлэн буй эд эсийг гэмтээлгүйгээр эмгэгтөрүүлэгчдийг устгаж байгаа бөгөөд зарим салбарт ч нэвтрүүлэх боломжтой арга болох нь харагдав.

ДҮГНЭЛТ

1. Байгалийн гаралтай гиперицин-ПВП ба органик $AlPcSO_4$ нэгдлүүдээр үйлчлэн LED гэрлээр шарахад трематодын өндөг бүрэн будагдан задарч байгаа болон $AlPcSO_4$ -р үйлчлүүлсэн хачиг эзэн амьтанд суухгүй эсвэл богино хугацаанд унаж байгаа нь уг арга нь үр дүнтэй болохыг харуулж байна.
2. Хяналтын ба туршилтын унасан хачгуудыг харьцуулан ажиглахад ФДЭ-р үйлчилсэн хачигны биеийн хэмжээ жижгэрсэн нь фотоурвал хачигнд нөлөөлж идэвхгүйжүүлж байна хэмээн үзэх үндэслэлтэй бөгөөд чихэнд элдэв шарх, яр, улайлт ажиглагдаагүй нь эзэн амьтанд ямар нэг сөрөг нөлөөгүй болох нь харагдаж байна.
3. Эзэн амьтан, байгаль экологид хор хөнөөлгүй эмчилгээний энэхүү шинэ аргыг туршин сорих судалгааг өөрийн оронд анхлан гүйцэтгэсэн нь эмгэгтөрүүлэгчдийг устгах өвөрмөц аргыг боловсруулах анхны алхам болж, уг судалгааны ажлыг өргөжүүлэн хэрэгжүүлэх суурь болсноор цаашид практикт ашиглах боломжтой юм гэж үзэж байна.

АШИГЛАСАН МЭДЭЭЛЭЛ

1. Hamblin, M.R. et. al., Photodynamic therapy: a new antimicrobial approach to infectious disease? *Photochem. Photobiol. Sci.* **2004**, 3: 436-450
2. Grellier, P. et. al., Photosensitized inactivation of *Plasmodium falciparum*- and *Babesia divergens* infected erythrocytes in whole blood by lipophilic pheophorbide derivatives.

- Vox. Sang.* **1997**, 72: 211–220.
3. Zhao, X.J. et. al., Structure-activity and mechanism studies on silicon phthalocyanines with *Plasmodium falciparum* in the dark and under red light. *Photochem. Photobiol.* **1997**, 66: 282–287.
 4. Kliukiene, R. et. al., Photoinactivation of trypanothionereductase and glutathione reductase by Al-phthalocyaninetetrasulfonate and hematoporphyrin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1996**, 218: 629–632.
 5. Patricia, E. et. al., Photodynamic activity of aluminium (III) and zinc (II) phthalocyanines in *Leishmania promastigotes*. *Biomedica.* **2006**, 26: 49-56
 6. Alouini, Z. et. al., Destruction of helminth eggs by photosensitized porphyrin, *J. Environ. Monit.* **2001**, 3: 548–551.
 7. Winckler, K.D. Special section: Focus on anti-microbial photodynamic therapy (PDT), *J. Photochem. Photobiol. B.* **2007**, 86: 43-44.
 8. Jori, G. et. al., Photodynamic therapy in the treatment of microbial, infections: Basic principles and perspective applications. *Lasers Surg Med.* **2006**, 38: 468–481.
 9. Allen, C.M. et. al., Sulfophthalocyanines for photodynamic inactivation of viruses in blood products: effect of structural modifications. *Photochem. Photobiol.* **1995**, 62: 184–189.
 10. Mohr, H. et. al., Photodynamic virus inactivation of blood components. *Immunol. Invest.* **1995**, 24: 73–85.
 11. Maisch, T. et. al., Antibacterial photodynamic therapy in dermatology. *Photochem. Photobiol. Sci.* **2004**, 3: 907–917.

STUDY OF PHOTODYNAMIC THERAPY AS A TREATMENT AGAINST ANIMAL PARASITES

B. Bayarmaa¹, B. Bat-Erdem², B. Battsetseg³

1-Mongolian State University of Agriculture, Council of Agricultural Sciences

2-National University of Mongolia, School of Biology and Biotechnology

3-Institute of Veterinary medicine, Laboratory of Molecular genetics

ABSTRACT

Photodynamic therapy (PDT) was studied as a new potential medical treatment against animal parasites, which was a precedent study of a novel harmless approach to host animals and environment. The favorable results appeared are encouraging the use of PDT against parasites and the broaden studies are considered in further. Results suggest that this method has a huge potential and it can find a specific role in the veterinary medicine.