

28,072
К 00

МЕДИЦИНА

ПОДПИСНАЯ НАУЧНО-ПОПУЛЯРНАЯ СЕРИЯ



1989/2

Г. Д. Кобринский
ЛИПОСОМЫ —
ТРАНСПОРТЕРЫ
ЛЕКАРСТВ



ЗНАНИЕ

НОВОЕ В ЖИЗНИ, НАУКЕ, ТЕХНИКЕ

КОБРИНСКИЙ Григорий Дмитриевич — доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник Научно-производственного объединения биотехнологии. Автор около 70 научных работ.

Редактор ПОЛИКАРПОВ А. И.

Кобринский Г. Д.

К 55 Липосомы — транспортеры лекарств. — М.: Знание, 1989. — 64 с. — (Новое в жизни, науке, технике. Сер. «Медицина»; № 2).

15 к.

Важным, а иногда и решающим условием успеха лечения многих заболеваний является не только эффективность вводимых лекарств, но и их способность оказывать терапевтическое действие лишь на те органы и ткани, которые поражены болезнью. Уменьшению токсичности лекарств и увеличению целенаправленности их действия способствуют липосомы. Интересным свойством липосом оказалась их способность усиливать действие иммуностимуляторов — веществ, повышающих иммунный ответ организма против опухолей и инфекционных заболеваний.

Рассчитана на медицинских работников.

1903010000

ББК 28.072

ISBN 5-07-000192-2

© Издательство «Знание», 1989 г.

ВВЕДЕНИЕ

С тех пор как было обнаружено, что все животные, растения, а также почти все микроорганизмы состоят из клеток, стало ясно, что клетка представляет собой некое структурное начало, точку отсчета всего живого на земле. Однако нельзя не упомянуть, что в дальнейшем были открыты живые микроорганизмы, не представляющие собой клетки, — это вирусы. И все же, не являясь клетками, они могут размножаться только внутри них. Из сказанного ясно, почему клетка оказалась в центре внимания биологов.

Прошло много лет. Наши знания о строении и функциях клеток неизмеримо обогатились. В особенности это касается ее внутренних структур: цитоплазмы и ядра. Благодаря этому мы теперь знаем основные особенности строения клеток, чем различаются между собой клетки животных и растений, а последние, в свою очередь, отличаются от клеток микроорганизмов.

Изучая клетку, исследователи долгое время оставляли почти без внимания ее наружную оболочку, которую теперь чаще называют плазматической мембраной. Однако постепенно накапливались факты, которые заставили более внимательно отнестись к этой части клетки. Примерно к середине нашего столетия стало ясно, что функции цитоплазматической мембраны весьма многообразны и во многом не познаны. К настоящему времени на основе синтеза фактов, полученных с помощью методов биохимии, биофизики, молекулярной физики, цитологии и других научных дисциплин, родилась новая наука «мембранология». Многие проблемы, рассматриваемые этой наукой, были решены с помощью липосом.

ЧТО ТАКОЕ ЛИПОСОМЫ?

В начале 60-х годов Алек Бангем, английский исследователь из Кембриджского института изучения физиологии животных, наблюдал интересное явление. После встряхивания в воде выделенные из клеток животных очищенные фосфолипиды образуют «пузырьки жира»,

получившие в дальнейшем название «липосомы». Эти пузырьки в отдельных случаях могут образовываться и самопроизвольно: достаточно лишь смешать фосфолипиды с водой. Не исключено, что этот феномен наблюдали и раньше, однако должного внимания на него никто не обратил. Бангема же при исследовании этих пузырьков под электронным микроскопом поразило их сходство с клетками, и он понял, что нашел великолепную модель для изучения клеточных мембран.

Плазматическая мембрана клеток, как было к тому времени уже доказано, выполняет роль барьера, разделяющего внутри- и внеклеточные компоненты; мембрана сохраняет таким образом стабильность внутреннего состава клетки. Ведь по обе ее стороны такие условия среды, как кислотность, температура, концентрация растворимых веществ, электрический потенциал, как правило, неодинаковы. Чтобы не погибнуть, клетке обязательно нужно сохранять обмен веществ с окружающей средой. Клетка должна получать нужные ей вещества: воду, ионы металлов, углеводы, аминокислоты, а ненужные выводить наружу. Состав среды, окружающий клетку, может меняться в широком диапазоне. В нее могут попасть множество веществ, которые клетке не нужны, а то и вредны для нее. И именно плазматическая мембрана служит тем барьером, который не пускает их внутрь клетки. С другой стороны, она же позволяет клетке избавляться от ненужных веществ, пропуская наружу продукты ее метаболизма. Вместе с тем мембраны — это не просто оболочки клеток: в них локализованы и транспортные системы и многочисленные ферменты.

Мембраны клеток оказывают большое влияние на процессы, протекающие внутри клеток, изменяя, например, активность ферментов в зависимости от того, связаны ли они с мембраной или «высвобождены» от нее.

Несмотря на все разнообразие биологических функций, все мембраны построены в основном из трех видов веществ: липидов, белков и сахаров.

О ЛИПИДАХ

Липиды представляют собой нерастворимые в воде вещества, близкие по своим свойствам к жирам. Они делятся на неполярные (на них не влияет электроста-

тическое напряжение) и полярные (на них оно влияет).

Во всех клеточных мембранах имеются только полярные липиды. Количество их зависит от типа мембраны (от 20 до 80% ее массы). Остальное приходится главным образом на долю белков.

Полярные липиды обладают амфипатическими свойствами; то есть включают в себя как гидрофобные (водоотталкивающие), так и гидрофильные (стремящиеся к воде) группы. При взбалтывании в воде или в водных растворах полярные липиды самопроизвольно образуют мицеллы (микроскопические капельки), в которых углеводородные хвосты липидов упрятаны вовнутрь, а электрически заряженные гидрофильные (полярные) головки обращены наружу, взаимодействуя с водным окружением. Полярные липиды способны также растекаться по поверхности водных растворов, образуя слой толщиной в одну молекулу (монослой). В таких системах хвосты молекул обращены к воздушной среде, а полярные головки погружены в водную фазу, которая, как известно, сама является полярной. Если же концентрация липидов в воде высока, то мицеллы слипаются и возникает плоский бимолекулярный слой (бислой). Наслаивая бислой друг на друга, можно получить многослойные липидные структуры. В зависимости от природы содержащихся в них жирных кислот фосфолипидные бислой имеют толщину от 6 до 7 нм (нанометр равен 10^{-9} м). Бислой липидов легко получить, энергично встряхивая водные суспензии фосфолипидов. При этом также образуются липосомы — замкнутые пузырьки воды, окруженные непрерывным липидным бислоем. Размеры и форма многослойных липосом зависят от многих факторов: кислотности среды, присутствия неорганических солей и пр.

Если осторожно сжимать липидную пленку, то можно заметить, что ее площадь постепенно уменьшается, а углеводородные цепи липидных молекул выстраиваются строго параллельными зигзагами. При максимальном сжатии липидные молекулы упакованы наиболее плотно (как в кристаллах) и их неподвижные цепи находятся как бы в твердом, замороженном состоянии. Такую пленку называют «твердой», или гелеобразной, так как она напоминает гель (студень). При меньшей степени сжатия пленки липидные молекулы становятся подвижными и могут изгибаться. Это состояние называют

жидкокристаллическим. Переход «твердой» пленки в «жидкую» зависит от температуры и напоминает процесс плавления. Такие же фазовые переходы наблюдаются у бислойных липидных структур, которые составляют клеточную мембрану.

Это сходство и дает возможность использовать липосомы как модели мембран клеток и тем самым исследовать ряд их свойств: электрическое сопротивление, проницаемость для молекул воды, для ионов и других заряженных частиц. Кроме того, с помощью липосом можно изучать действие на мембраны клеток многих лекарств, витаминов, гормонов, антибиотиков и других веществ.

ПЕРЕНОСЧИКИ ЛЕКАРСТВ

В 1971 г. Грегори Грегориадис из Центра клинических исследований, расположенного в Хэрроу (Англия), предложил использовать липосомы для медицинских целей в качестве носителей различных соединений, главным образом — лекарств. Эта идея оказалась чрезвычайно плодотворной и очень быстро обрела последователей. И сегодня внимание исследователей во всем мире направлено на претворение ее в жизнь.

Известно, что заболевания часто поражают не весь организм, а развиваются в отдельных органах и тканях. Так, например, при раке основные события происходят в месте расположения опухоли, при инфаркте миокарда — в мышце сердца, при дизентерии — в кишечнике и т. д. Поэтому лечение пойдет быстрее и успешнее, если введенные лекарства будут действовать непосредственно в очаге заболевания. Особенно это важно в тех случаях, когда приходится иметь дело с весьма ядовитыми препаратами, которые хорошо лечат саму болезнь, но при этом плохо влияют на другие системы организма. Часто это заставляет отказываться от использования подобных веществ и применять для лечения менее эффективные средства.

Однако создать нужную концентрацию лекарственных веществ в пораженных болезнью местах, не затрагивая остальные части организма, — задача непростая. Ведь медикаменты, каким бы способом их ни вводили, расходятся по организму более или менее равномерно. Для того чтобы они попали в нужные места, необходим

какой-то носитель, который мог бы их туда доставить.

За последние несколько лет было проведено много опытов для решения этой проблемы. В частности, предлагали использовать некоторые макромолекулы (антигены, белки, энзимы, гормоны), клетки (эритроциты, лейкоциты), вирусы (вирус Сейда и др.), синтетические частицы (латекс, микросферы из полистирола и пр.). Многоплановые исследования показали, что лучшими носителями лекарств являются липосомы. По сравнению с ними все другие вещества, которые могут быть использованы для этой цели, обладают весьма существенными недостатками: токсичностью, иммуногенностью, дороговизной или неспособностью к химическому соединению с лекарственными средствами.

Как носители лекарств липосомы обладают по меньшей мере двумя важными качествами: сходством по составу с природными клеточными мембранами и универсальностью. Первым свойством обладают и другие носители, например эритроциты. Второе свойство уникально. Оно позволяет липосомам связывать широкий круг фармакологически активных веществ: противовоспалительных и противомикробных препаратов, гормонов, ферментов, вакцин и др. Кроме того, липосомы нетоксичны и легко биodeградируются в организме. Они лишены антигенных свойств (при соответствующем подборе). Словом, если говорить об идеальном носителе, способном доставлять лекарственные вещества в места их действия, то липосомы больше всего подходят для этой цели. С их помощью можно уменьшить дозировку вводимых веществ без снижения эффективности действия, можно уменьшить иммунные и аллергические реакции, возникающие при введении того или иного препарата. При этом возрастает способность заключенных в липосомы веществ проникать внутрь клеток, а также увеличивается длительность их пребывания в организме.

Для того чтобы лучше понять, на чем основана эффективность липосом как носителей лекарств, рассмотрим, что происходит при их взаимодействии с клетками.

ЛИПОСОМЫ И КЛЕТКИ

Рассмотрим, что же показали исследования, проведенные в этой области:

1. Липосомы просто адсорбируются на клеточной поверхности. В этом случае их еще можно иногда отделить от клеток с помощью многочисленных промывок.

2. Связавшись с клетками, липосомы «заглатываются» ими (эндоцитируются). Это явление было открыто еще в конце XIX в. И. И. Мечниковым. Он обнаружил, что белые кровяные тельца — лейкоциты — способны «заглатывать» бактерии или же другие вредные для организма частицы (уголь, тушь). Мечников дал название этому феномену «фагоцитоз» (от латинского слова «фаго» — «пожираю»). Если же клетки поглощают таким же образом жидкие вещества, то этот процесс носит название «пиноцитоза».

Внедрившись внутрь клеток, липосомы, как и другие эндоцитированные частицы, попадают в лизосомы, окруженные мембраной пузырьки, находящиеся в цитоплазме клеток. Лизосомы содержат множество различных ферментов для расщепления белков и жиров. Фосфолипиды липосом также хорошо расщепляются лизосомальными ферментами.

3. Липосомы просто сливаются с мембраной клеток. В этом случае мембрана липосом становится частью клеточной мембраны.

4. Липосомы обмениваются своими липидами с клетками.

Какой из этих видов взаимодействия преобладает, зависит от многих факторов, и в том числе от агрегатного состояния липосом. Если липосомы «твердые», они главным образом адсорбируются и эндоцитируются, если «жидкие», то преимущественно происходит слияние и обмен липидами. Процесс можно усилить, если в состав липосом включить некоторые вещества. Например, если ввести в липосомную мембрану определенные гликолипиды, связывание липосом с клеточной поверхностью увеличится в 5—6 раз. Можно также «заставить» липосомы сливаться с клеточными мембранами, если ввести в их состав гликопротеины некоторых вирусов (например, вируса Сендай). Наконец, можно добиться усиления взаимодействия клеток с липосомами, включив в состав липосом соответствующие антитела к антигенам клеточной поверхности (например, антитела к антигенам опухолевых клеток). Важно отметить следующее обстоятельство: если липосомы не поглощаются клетками, а только соединяются с ними, то и в этом слу-

чае, как было недавно установлено, они могут разрушаться, а их содержимое «выливается» в околоклеточное пространство, что также способствует его проникновению внутрь клеток. Большое значение для взаимодействия липосом с клеточной поверхностью имеет «материал», из которого они сделаны. Если фосфолипиды, из которых готовят липосомы, выделены из каких-либо определенных клеток, то способность липосом соединяться именно с этими клетками значительно возрастает.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ЛИПОСОМ

Основой для приготовления липосом служат фосфолипиды, к которым можно добавлять различные вещества в зависимости от того, какие цели ставит перед собой исследователь. Стенка этих пузырьков может состоять из одного бислоя (такие липосомы называются униламеллярными — однослойными) или из нескольких бислоев (тогда липосомы называются мультиламеллярными — многослойными).

До недавнего времени существовало около 20 способов приготовления липосом. Каждый из них до сих пор используется в зависимости от цели, которая при этом преследуется. Однако у всех имелись крупные недостатки, делавшие промышленное получение липосом чрезвычайно сложным и дорогим.

В начале 80-х годов различными авторами в США, Западной Европе и Японии был предложен новый метод. В его основе лежит замораживание липосом с включенными в них веществами (иногда многократное с последующим оттаиванием) и с последующей сушкой в присутствии различных криопротекторов (веществ, предохраняющих липосомы от разрушения при замораживании, размораживании и сушке). Для этого обычно используются различные сахара (трехалоза, маннит, сахароза, глюкоза и т. д.). Метод позволяет готовить липосомы без органических растворителей и без использования ультразвука (что неблагоприятно отражается на их качестве). Кроме того, достигается высокий процент включения в липосомы требуемых веществ.

Таким образом, описанный метод весьма перспективен для приготовления липосом в промышленных масштабах.

Заключение медикаментозных веществ в липосомы позволяет удлинить срок их пребывания в живых тканях. Здесь липосомы играют роль депо, из которого необходимое лекарство постепенно поступает в организм. Особенно это важно в тех случаях, когда препарат слишком быстро выводится наружу.

В качестве примера может служить интерферон, который может находиться в организме всего несколько часов. Другой пример — некоторые иммуномодуляторы (МАФ, МДП и др.). Они покидают организм еще быстрее — через 1—2 часа.

Липосомы можно использовать для точной, целенаправленной доставки лекарственных веществ. Однако не все так просто. После введения в организм большая часть липосом поглощается клетками ретикулоэндотелиальной системы (РЭС). РЭС представляет собой систему макрофагов — клеток, способных к фагоцитозу и выполняющих в организме защитную функцию.

Клетки РЭС распространены по всему организму (находятся в крови, в соединительной ткани, костном мозге, печени, селезенке, легких). Именно они поглощают микроорганизмы и чужеродные частицы, попавшие в организм, и в дальнейшем их переваривают. Все это необходимо для борьбы с возбудителями инфекций и поддержания постоянства внутренней среды. Таким образом, если цель введения липосом заключается в их контакте с клетками РЭС, то проблем почти не возникает: липосомы туда обязательно попадут. Если же требуется, чтобы липосомы доставили свое содержимое в другие места, то добиться этого сложнее.

При попадании липосом, несущих лекарственные вещества в организм человека или животных, важно, чтобы они не «развалились» раньше времени и сумели донести свое содержимое до нужного места. Исследования, проведенные в этом направлении, показали, что у липосом имеется весьма серьезный враг: им оказалась сыворотка крови. Дело в том, что в ее состав входят липопротеины — сложные белки, содержащие липиды. По своей плотности они разделяются на различные классы: липопротеины высокой плотности, низкой плотности и хиломикроны (капельки триацилглицеролов).

Синтезируются эти соединения главным образом в печени и кишечнике.

Плотность липопротеинов зависит от содержания в них липидов. Чем выше их содержание, тем ниже плотность, и наоборот. Так вот, особенно страшны для липосом липопротеины высокой плотности, которые могут обмениваться с ними липидами и способствовать тем самым разрушению липосом и вытеканию из них содержимого.

В настоящее время найдены способы, позволяющие увеличить устойчивость липосом к действию липопротеинов. Для этого в них вводят холестерин, который оказывает уплотняющее действие на молекулы фосфолипидов и тем самым увеличивает их стойкость к действию липопротеинов высокой плотности. Существуют и другие методы, позволяющие достичь указанной цели.

ЛИПОСОМЫ В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОНКОЛОГИИ

Наиболее широкое распространение как носители лекарств липосомы получили в экспериментальной онкологии. Суть в том, что существует ряд препаратов, которые обладают способностью весьма эффективно разрушать злокачественные клетки или тормозить их рост. Однако использовать такие препараты для лечения подчас нельзя ввиду большой их токсичности или же плохой растворимости в воде. Предполагалось, что доставка цитотоксических (убивающих клетки) средств с помощью липосом в места нахождения злокачественных клеток не только позволит избежать нежелательных реакций, связанных с действием препаратов на нормальные ткани, но и предотвратит инактивацию таких клеток.

Однако первые опыты, проведенные в 1972—1973 гг., дали отрицательные результаты. Липосомы «не держали» заключенные в них противоопухолевые вещества. Продолжая исследования, ученым все же удалось приготовить липосомы, которые успевали доставлять лекарства к клеткам опухоли. Ключевую роль в этом сыграло увеличение содержания в составе липосом холестерина (до 30%).

Одним из главных объектов, привлечших внимание исследователей, стала печень. Дело в том, что, хотя

первичный рак печени встречается сравнительно нечасто, этот орган является наиболее обычным местом локализации метастазов (клеток, оторвавшихся от первичной опухоли, распространившихся по всему организму и осевших в различных его местах). Кроме того, печень представляет собой орган, куда охотнее всего стремятся липосомы. А это, в свою очередь, позволяет с их помощью накопить здесь высокие концентрации противоопухолевых средств. Иными словами, с помощью липосом можно вводить очень эффективные, но и одновременно высокотоксичные вещества, добиваясь их достаточно высокой концентрации в нужном месте и не отравляя ими здоровые клетки и ткани. Напрашивается и такой вывод: с помощью липосом можно в ряде случаев значительно снизить дозы вводимых противоопухолевых препаратов, не снижая их эффективности.

Для примера расскажем об исследованиях, проведенных в Израиле в Институте Вейцмана группой сотрудников, возглавляемой А. Габизоном. Вначале специалисты провели исследования на здоровых мышцах, которым внутривенно вводили препарат адриамицин, заключенный в липосомы. Оказалось, что при такой постановке опыта накопление препарата в печени и селезенке животных примерно в 10 раз превосходило уровень концентрации этого лекарства, введенного животным без липосом. В высоких дозах адриамицин весьма токсичен (в первую очередь для мышцы сердца). Однако при введении его в липосомах уровень адриамицина в сердечной мышце мышей стал значительно ниже. Получив эти данные, авторы продолжили эксперименты. Мышам предварительно ввели клетки опухоли (мышиний лимфомы). После того как эта опухоль выросла, она дала, как и ожидалось, метастазы в печень и селезенку (орган, который тоже захватывает много липосом). Животных лечили адриамицином в липосомах и наблюдали его накопление в печени и селезенке. Отмечалось значительное торможение роста метастазов в печени по сравнению с введением контрольным животным чистого адриамицина.

Группа бельгийских исследователей из Брюссельского института им. Жюля Борде провела интересные исследования на животных с препаратом NSC-251635 (для простоты NSC), который является дериватом хинолона. Препарат этот интересен тем, что обладает выра-

женным противоопухолевым действием. Использованию этого средства в клинике мешает весьма существенное обстоятельство: NSC очень плохо растворим в воде. Однако он хорошо растворяется в жирах. Это обстоятельство и было использовано для введения NSC внутрь липосом. Это позволило добиться успеха в 50—100% случаев лечения мышинной лейкемии. Введение же контрольным животным чистого NSC оказалось неэффективным.

Еще одним примером могут служить эксперименты индийских исследователей, проводивших лечение другой опухоли мышей — асцитной карциномы Эрлиха препаратами платины, хорошо помогающими при лечении новообразований, но одновременно и очень токсичными. В этих опытах липосомальные формы данных препаратов позволили не только добиться более выраженного терапевтического эффекта воздействия на опухоль, но и снизить дозы вводимого лекарства.

Интересные данные получили американские исследователи, работавшие с лейкоцитарным интерфероном. Этот препарат также весьма эффективен при лечении некоторых новообразований (например, лейкемий). Он почти нетоксичен, однако очень быстро выводится из организма — примерно через несколько часов. При инкапсуляции интерферона в липосомах он значительно дольше задерживался в организме. В частности, при его внутримышечном введении мышам в липосомальной форме препарат можно было обнаружить в их крови даже через несколько суток.

Результаты экспериментов, проведенных на животных, побудили группу сотрудников Брюссельского института им. Жюля Борде испытать липосомальные формы противоопухолевых препаратов на людях. Было выбрано 5 больных с неоплазмами. Лечение различными противоопухолевыми препаратами, которое перед этим все они прошли, оказалось неэффективным. У 4 из пациентов были очень запущенные опухоли, а у 5-го эритропения — один из видов рака крови. Лечение больных проводили препаратом NSC-251635, который, как указывалось выше, показал хорошие результаты на животных. Липосомы с заключенным в них препаратом NSC перед введением были подвергнуты стерилизации путем облучения. Препарат в липосомах вводили в дозах 2 мг на кг веса тела пациента. Результаты оказались

следующими: проведенное лечение не вызвало регрессии опухолей или улучшения состояния здоровья больных. Однако было отмечено, что переносимость липосомального NSC всеми больными была прекрасной. Никаких токсических проявлений после неоднократного введения больным этого препарата отмечено не было.

Отсутствие лечебного эффекта несколько не дискредитирует саму идею лечения новообразований с помощью липосомальных препаратов. Неудачу врачей можно объяснить несколькими причинами. Во-первых, лечение было начато в тот период, когда заболевание было уже сильно запущено. Не исключено также, во-вторых, что опухоли, как и рак крови, уже приобрели устойчивость к различным видам лекарств, которые до этого принимали больные, и в том числе к NSC-251635. Зато несомненно одно: липосомы позволяют вводить в организм весьма токсичные и плохо растворимые в воде вещества, что само по себе очень важно, так как может позволить расширить диапазон использования лекарств для лечения новообразований, а также увеличить дозы тех из них, которые по причине токсичности нельзя вводить в организм в требуемых количествах.

Рассказывая об использовании липосом для лечения новообразований, мы не упомянули многие факторы, влияние которых на терапию рака нельзя недооценивать. К ним относятся методы получения липосом, выбор их состава, размера и заряда их поверхности, многослойность или однослойность и пр. Анализируя все многообразие этих показателей, можно прийти к выводу, что никаких выраженных закономерностей здесь найти не удалось. Можно лишь проследить тяготение авторов к тем способам, которые позволяли максимально увеличить процент включения в липосомы требуемых веществ, а также их стремление сделать липосомы достаточно устойчивыми к воздействию среды после их введения в организм.

Определенную роль в распределении липосом в живых тканях играет способ их введения. Так, введение мышам липосом внутрибрюшинно позволяет уменьшить их захват клетками печени по сравнению с внутривенным их введением в 8 раз. При подкожном их введении в печень и селезенку попадало соответственно в 21 и в 50 раз меньше липосом.

ЛИПОСОМЫ В ЛЕЧЕНИИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Идея терапии инфекционных заболеваний с помощью липосом также основана на усилении с их помощью эффективности действия лекарств. В первую очередь это относится к тем инфекциям, развитие которых так или иначе связано с пребыванием их возбудителей в клетках РЭС. К ним относятся такие болезни, как чума, бруцеллез, туляремия, проказа, сальмонеллез, малярия, лейшманиоз и др. К таким заболеваниям может быть отнесен и ряд вирусных инфекций, например, гепатит В или А, СПИД, герпес и пр. Вообще говоря, липосомы (благодаря их выраженной способности проникать внутрь клеток или вводить туда свое содержимое) могут быть использованы для лечения любых вирусных инфекций, поскольку вирусы, как известно, паразитируют и размножаются только внутри клеток.

Известно, что многие антибиотики после их введения внутрь слишком быстро выводятся наружу, а это заметно снижает эффективность их действия на патогенные микроорганизмы. Чтобы усилить их лечебные свойства, приходится увеличивать частоту введения препаратов, что не всегда приемлемо из-за проявления токсичности многих из антибиотиков. Как уже подчеркивалось, липосомы могут помочь эти отрицательные качества снизить. Кроме того, с их помощью можно доставить необходимые химиотерапевтические средства к клеткам РЭС, то есть туда, где располагаются очаги вышеупомянутых заболеваний. Таким образом, повышается содержание лекарств именно там, где нужно, не затрагиваются другие области организма.

Еще в исследованиях Г. Грегориадиса, опубликованных в 1973 г., было показано, что липосомы, содержащие антибиотик пенициллин, удлиняют время циркуляции этого лекарства в крови, а также влияют на его распространение в тканях. Пенициллин концентрировался главным образом в макрофагах печени и селезенки.

В 1979 г. Ходрес с коллегами испытали действие антибиотика неомидина, заключенного в липосомы, на кишечную палочку. Бактерию выращивали в бульоне, после чего в него добавляли неомидин. При этом в од-

ни пробирки антибиотик добавляли в свободном виде, в другие — в тех же дозах в липосомальной форме. Исследователи наблюдали более высокую антибактериальную активность липосомального препарата по сравнению с нелипосомальным.

Группа Накучио (США) работала с культурами стафилококка, на которые воздействовала антибиотиком пиперациллином. Штаммы золотистого стафилококка обладают ферментом, который блокирует действие антибиотика. Однако в отличие от свободного пиперациллина антибиотик в липосомах тормозил рост стафилококка. Эти же авторы испытали действие на кишечную и синегнойную палочки антибиотика гентамицина. И тот и другой микробы довольно устойчивы к его действию. Однако заключенный в липосомы гентамицин приобрел способность весьма активно тормозить рост этих бактерий в пробирках. Группа Грегориадиса в 1978 г. определяла влияние антибиотика дигидрострептомицина на находящиеся внутри макрофагов золотистых стафилококков. В результате оказалось, что липосомальный препарат дигидрострептомицина убивал стафилококки в 40 раз активнее, чем свободный антибиотик.

Интересные результаты были получены специалистами при работе с возбудителями бруцеллеза. Известно, что болезнь эта, поражающая домашних животных и человека, часто принимает затяжное, хроническое течение благодаря тому, что ее возбудители (бруцеллы) пребывают внутри клеток (главным образом макрофагов). Это защищает их от воздействий химиотерапевтических средств и антител. Авторы показали, что ряд антибиотиков значительно эффективнее снижал число бруцелл в макрофагах, если их добавляли в пробирки в липосомальной форме, а не в свободном виде (испытывались препараты стрептомицина и ряда аминокликозидов — канамицин, торбамицин, амикасин, гентамицин).

До сих пор мы рассказывали об экспериментах, проведенных вне организма. Проведение их было необходимо, так как позволило отработать целый ряд условий, требуемых для перехода к лечению инфекционных заболеваний у животных и даже у людей. Условия касаются способов приготовления липосом, методов включения в них химиотерапевтических средств, дозиро-

вок и пр. Используя полученные данные, ученые перешли к экспериментам на лабораторных животных, служащих, как известно, моделями различных инфекционных заболеваний.

В 1984 г. М. А. Владимирский с сотрудниками из Московского НИИ туберкулеза опубликовали результаты экспериментов по лечению мышей, зараженных туберкулезом. Животных лечили препаратами стрептомицина, заключенными в липосомы. Контрольным животным, также зараженным туберкулезом, вводили антибиотик в чистом виде. Эффективность лечения оценивали по продолжительности жизни животных. Результаты опытов показали, что лечение мышей препаратами стрептомицина не предотвращало гибели животных от туберкулеза. Однако введение антибиотиков в липосомальных формах удлиняло продолжительность их жизни по сравнению с контрольной группой.

Группа американских специалистов провела многоплановые эксперименты, связанные с лечением бруцеллеза. О некоторых из них мы писали выше. Возбудители бруцеллеза способны вызвать заболевания у большинства млекопитающих, включая человека. Попадая в организм, бруцеллы колонизируют клетки РЭС (в частности, фагоциты). Они принадлежат к числу тех немногих бактерий, которые способны не только долгое время жить внутри клеток РЭС, но даже в них размножаться. Это обстоятельство — причина частого хронического течения заболевания: «достать» бруцеллы, находящиеся внутри клеток, с помощью лекарств или же антител весьма сложно. Отсюда понятно, что стратегия лечения хронически текущего бруцеллеза во многом сводится к тому, чтобы суметь доставить нужное лекарство внутрь клеток, где находятся возбудители болезни.

В 1983 г. сотрудники Обурнского университета в США под руководством К. Динса сообщили, что антибиотик гентамицин, заключенный в липосомы, значительно легче проникает через стенки культур фагоцитов, чем это делает свободный гентамицин. Более того, проникнув в фагоциты, он остается в этих клетках значительно дольше чистого антибиотика. Указанные исследования послужили отправной точкой для лечения бруцеллеза.

Введение животным свободного гентамицина не приводило к значительному снижению числа бруцелл в тка-

059321

ни селезенки морских свинок по сравнению с контрольной группой, вообще не получавшей лечения. Лишь заключенный в липосомы этот антибиотик приобрел выраженную способность убивать эти бактерии (их число по сравнению с контролем снижалось примерно в 60 раз).

Другими микроорганизмами, локализующимися в макрофагах, являются сальмонеллы (названные так в честь американского исследователя Д. Сальмона): К ним относятся возбудители брюшного тифа, паратифов и сальмонеллезов (пищевые инфекции). Проникнув через желудочно-кишечный тракт в организм человека или животного, сальмонеллы попадают в макрофаги, где некоторое время размножаются. Именно по этой причине они, так же как и бруцеллы, могут служить удобными мишенями для липосом.

В 1983 г. группа американских исследователей во главе с В. Дезидерио изучала влияние антибиотика цефалотина на культуру макрофагов, зараженных бактериями мышинного брюшного тифа, которые патогенны и для людей. Больные клетки обрабатывали как чистым, так и заключенным в липосомы антибиотиком. Эксперименты показали, что липосомы помогали получать внутри макрофагов более высокие концентрации антибиотика, что и явилось причиной их более высокой эффективности.

ЛЕЧЕНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ ПРОСТЕЙШИМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

В конце 70-х годов появились очень интересные работы по лечению лейшманиоза. Это заболевание широко распространено в тропических странах, где различными его формами страдают около ста миллионов человек.

Лейшманиоз, вызывающий болезнь, представляют собой одноклеточные микроорганизмы, относящиеся к типу простейших. Наиболее тяжелой является висцеральная форма лейшманиоза, когда эти микроорганизмы поражают печень, селезенку и костный мозг. Смертность при этой форме болезни приближается к 100%.

Лечение лейшманиоза вообще очень трудно, так как лекарствами для него служат препараты соединений мышьяка. Они очень токсичны и в больших дозах вызы-

вают нарушения деятельности сердца, печени и почек.

В 1978 г. появились работы группы К. Олвинга из Армейского института исследований им. Уолтера Рида (США) и независимо от них — К. Блэка из Лондонского зоологического общества. Группа Олвинга обнаружила, что если содержащее мышьяк лекарство заключить в липосомы, то его доза, необходимая для лечения лейшманиоза, резко снижается. Одно из таких лекарств, введенное в липосомы в опытах, проведенных на зараженных лейшманиозом хомячках, оказалось в 700 раз более эффективным по сравнению с тем же препаратом, назначенным животным в свободном виде. Как показали специально проведенные исследования, произошло это потому, что заключенное в липосомах лекарство попадало именно в те клетки, где находились лейшмании. Оно высвобождалось там из липосом и поглощалось лейшманиями, что и приводило их к гибели.

ЭКСПЕРИМЕНТЫ ПО ЛЕЧЕНИЮ МАЛЯРИИ

Малярия также принадлежит к тем заболеваниям, развитие которых так или иначе связано с пребыванием их возбудителей в клетках РЭС.

В сложном жизненном цикле всех форм возбудителей малярии человека (малярийных плазмодиев) одна из них (так называемый спорозонт) после попадания в кровотоки в результате укуса комара инвазирует клетки печени. Здесь спорозонт обычно пребывает более недели. В этот период он размножается и трансформируется биохимически, биологически и морфологически, переходя в другую форму малярийного плазмодия — шизонт. Затем он выходит из печени и внедряется в эритроциты.

Сотрудники группы К. Олвинга провели следующий эксперимент. Они заразили группу мышей малярийными плазмодиями. Через день после заражения животным ввели антималярийный препарат примакин: одной группе мышей — в свободном виде, а другой — заключенный в липосомы. Разницы в эффективности лечения авторы не наблюдали, однако липосомы позволили значительно снизить его токсичность: в липосомах этот препарат вызывал смертность мышей в значительно более высоких дозах, чем в свободном виде.

ЛЕЧЕНИЕ ГРИБКОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Грибковые заболевания очень часто наблюдаются у людей с ослабленной иммунной системой: у больных раком, СПИДом, у людей, страдающих иммунодефицитами, у новорожденных и др. Лечение кандидоза обычно проводится препаратами, которые, к сожалению, весьма токсичны. Одно из таких средств — амфотерцин В.

В 1983 г. были опубликованы исследования Г. Лопеца-Бернштейна (США), проведенные им на мышах. Эти животные служат хорошей моделью кандидоза. При лечении зараженных животных чистым амфотерцином В максимально переносимая доза этого препарата составила 0,8 мг/кг веса. Однако при введении препарата в липосомах его максимально переносимая доза возросла до 12 мг/кг веса. Было отмечено, что при введении больным животным липосомального амфотерцина 4 мг/кг веса продлевалось их жизнь по сравнению с назначением чистого препарата.

Было проведено также лечение 12 больных разными формами рака, у которых, помимо их основного заболевания, развился также и кандидоз. Всем им был проведен курс лечения амфотерцином В, помещенным в липосомы. В результате у 2 больных наблюдалось полное излечение кандидоза, у 5 — частичное улучшение течения заболевания, лишь у 5 остальных пациентов реакция на лечение не последовало.

Аналогично кандидозу липосомы показали свое превосходство при лечении других грибковых заболеваний: криптококкоза и гистоплазмоза. В экспериментах на животных лекарственные препараты, заключенные в липосомы, оказались намного эффективнее применения этих же лекарств без липосом.

НАПРАВЛЕННЫЙ ТРАНСПОРТ ЛИПОСОМ

До сих пор мы говорили об использовании липосом для лечения инфекционных заболеваний, возбудители которых связаны с клетками РЭС. Однако как быть в тех случаях, когда основные события при развитии болезни происходят в других местах, там где клеток РЭС немного? Как заставить липосомы изменить их обычному маршруту и «прибыть» туда, где находится очаг за-

болевания? Клетки РЭС практически есть везде, но в одних местах (например, печени или селезенке) их много, а в других (например, в мышечной ткани) их значительно меньше. Еще несколько лет тому назад эта проблема казалась неразрешимой. Однако сейчас трудности, возникающие при желании изменить различные маршруты липосом, представляются преодолимыми.

Одна из идей заключалась в проведении предварительной блокады клеток ретикулоэндотелиальной системы. Добиться этого можно, например, введя в организм активированный уголь, декстран или тушь. Весьма оригинальное решение этой задачи в 1983 г. было предложено группой американских авторов из Калифорнийского отделения медицинской онкологии во главе с Р. Т. Профитом. Эта группа провела лечение экспериментальных опухолей мышей, локализованных как бы «в стороне» от клеток РЭС — в правой задней лапке животных. Для того чтобы липосомы не были захвачены клетками РЭС, последние решено было блокировать. Блокаду проводили путем введения животным пустых липосом. Час спустя после этого мышам ввели липосомы, содержавшие радиоактивный индий, а потом измерили уровень радиоактивности в клетках опухоли. Оказалось, что он возрос на 50% по сравнению с тем, который отмечается у контрольных животных.

Однако при всем изяществе сделанного эксперимента этот путь блокады РЭС ненадежен. Значительно большие перспективы открывает другой метод, заключающийся в использовании лигандов (в данном случае атомов или молекул, связанных с поверхностью липосом, благодаря чему последние приобретают способность соединяться с теми клетками, на поверхности которых имеются молекулы, по химическому составу близкие к лиганду). Поскольку лигандов существует довольно много, то должно быть и много клеток, разнообразная поверхность которых имеет участки, родственные лигандам. Таким образом, открываются широкие возможности направлять липосомы с включенными в них веществами в нужные области организма, минуя клетки РЭС.

Известно, что взаимная связь между вирусами и клетками часто опосредуется соединением соответствующих лектинов и сахаров. Взаимодействовать подобным образом могут и липосомы, если определенные бел-

ки поверхности вируса ввести в их мембраны. Такие эксперименты провели японские исследователи. Они ввели белки поверхности вируса Сендай в липосомы. Липосомы смогли фиксироваться на поверхности и сливаться с мембраной клеток (мышинных фибробластов) в 100 раз активнее, чем обыкновенные липосомы.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С КЛЕТКАМИ ПОСРЕДСТВОМ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Идеальными молекулами, способными заставить липосомы взаимодействовать с клетками, могут служить антитела (в особенности моноклональные антитела, которые точно направлены против соответствующих антигенных детерминант). Такие иммунолипосомы можно в принципе направлять в любое место в организме.

Первые эксперименты в этой области были проведены группой Грегориадиса в 1975 г., когда антитела, специфичные к поверхности клеток животных (мышей) и человека, были соединены с помощью простого перемешивания с липосомами. Липосомы соединялись с поверхностью соответствующих клеток в 25 раз активнее, чем липосомы без антител. Произведены успешные опыты на мышах, которым вводили липосомы с антителами на их поверхности, направленными против имеющихся у этих животных опухолевых клеток.

Упомянутые способы присоединения специфических молекул к поверхности липосом (главным образом путем смешивания) сильно изменяют свойства присоединившихся молекул.

В 1980 г. Урдал и Хакаморн предложили весьма простой и удобный способ связи белков и липосом. Они осуществили его с помощью белка авидина, добываемого из яичных желтков. Белок этот обладает способностью очень прочно связываться с другим белком — биотином. Существуют и другие способы связи белков с липосом.

ЛИПОСОМЫ И ИММУНОМОДУЛЯТОРЫ

В этой главе нам предстоит рассказать о других, пожалуй, еще более удивительных свойствах липосом. Речь пойдет об их влиянии на лимфокины.

Лимфокины представляют собой биологически ак-

тивные вещества, синтезируемые и выделяемые преимущественно лимфоцитами при воздействии на эти клетки определенных веществ, например лектинов. Лимфокины осуществляют кооперацию, координацию и регуляцию функций клеток, участвующих в иммунном ответе. К лимфокинам относятся гаммаинтерферон, фактор активации макрофагов (МАФ), фактор миграции макрофагов и многие другие вещества. Большое значение имеет воздействие лимфокинов на клетки иммунной системы, и в частности на макрофаги. Как известно, макрофаги выполняют многообразные функции в организме. Одной из них является борьба с онкологическими и инфекционными заболеваниями. Макрофаги способны уничтожать раковые клетки, а также клетки, инфицированные вирусами и бактериями. Однако делать это они способны не всегда. Для того чтобы это произошло, макрофаги нужно возбудить (активировать), так как в спокойном состоянии эти функции они выполняют довольно слабо. Не так давно стало известно, что активировать макрофаги могут некоторые лимфокины: МАФ, гаммаинтерферон, а также липополисахариды бактерий. Происходит это после того, как эти вещества вместе с макрофагами определенное время инкубировали или же когда вводили эти вещества в организм. Некоторые исследователи попытались с помощью лимфокинов, введенных в организм, бороться с онкологическими или инфекционными заболеваниями. Однако эксперименты на животных не дали обнадеживающих результатов. Причина крылась в том, что лимфокины слишком быстро выводились из организма (примерно через 1—2 часа). Результаты стали лучше, когда препараты стали вводить часто и помногу. Однако такой способ лечения онкологических заболеваний в клинике совершенно неприемлем, так как получить лимфокины в необходимых количествах трудно и дорого. А кроме того, они токсичны при введении в больших дозах.

В конце 70-х — начале 80-х годов были опубликованы работы группы исследователей из Техасского университета. Ученые попытались воздействовать на макрофаги с помощью иммуностимуляторов (лимфокинов), заключенных в липосомы. Результаты экспериментов превзошли все ожидания. Лимфокины в липосомах не только активировали макрофаги, но и делали это в значительно меньших дозах, чем в свободном виде. Име-

ются данные, что концентрацию лимфокинов можно иногда снижать в сотни и тысячи раз без ущерба эффективности их действия.

Помимо лимфокинов, активировать макрофаги оказался способным и мурамилдипептид (МДП). Это вещество является компонентом стенки микобактерий (к ним принадлежат и возбудители туберкулеза). Мурамилдипептид является действующим началом иммуностимулирующей активности адьюванта Фрейнда. В отличие от МАФ или гаммаинтерферона, а также других лимфокинов молекула МДП имеет небольшую массу и сравнительно легко поддается химическому синтезу. В дальнейшем были синтезированы производные МДП (например, мурамилтрипептид — МТП), активность которых превышала активность МДП. Так, французские исследователи во главе с М. Ц. Филлипсом показали, что дериват МДП, МДП-ж, помещенный в липосомы, оказался в 10 раз эффективнее, чем МДР в липосомах, и в 7000 раз, чем свободный МДП. Если же его готовили в липосомах, а затем эти липосомы высушивали, то активность МДП-ж увеличивалась в 50—100 тыс. раз по сравнению со свободным МДП. Для того чтобы активировать моноциты (клетки, также входящие в систему РЭС) с помощью МДП против клеток опухоли (меланомы мышей), требовалось культивировать моноциты с МДП не менее 4 дней. В липосомальной форме тот же МДП возбуждал моноциты за 24 часа. При этом его способность уничтожать клетки опухоли в липосомальной форме сохранялась 5 дней — значительно дольше, чем свободным. И наконец, для активации МДП в липосомальной форме его требовалось в 1600 раз меньше, чем свободного препарата. Следует отметить также, что МДП малотоксичен и лишен антигенных свойств.

И. Фидлер провел следующий опыт. Мышам, имеющим привитые им меланомы и метастазы от этих опухолей в легких, вводили препараты МДП и МАФ. Предварительно первичная опухоль у этих животных удалялась хирургическим путем, а через 7 дней начинали лечение метастазов. В результате многократного введения этих препаратов в липосомах метастазы или полностью исчезали, или их рост тормозился. При этом были определены пороговые дозы каждого из иммуномодуляторов, ниже которых лечебного действия уже не

наблюдалось. Однако когда животным вводили оба препарата в липосомах в дозах, вдвое меньше пороговых, то лечебный эффект наступал снова. Таким образом, было показано, что, находясь в одних и тех же липосомах, оба препарата усиливают терапевтическое действие друг друга. Если же животным вводили липосомы с оптимальными дозами каждого из веществ, то это приводило к полной регрессии метастазов у $1/3$ животных.

В. Ц. Кофф из Национального Института рака (США) изучал действие активированных лимфокинами моноцитов на клетки, зараженные вирусом герпеса. Моноциты, активированные гаммаинтерфероном, оказывали токсическое воздействие на клетки эмбриона человека, зараженные вирусом, и не трогали незараженные клетки. Так же действовали и моноциты, активированные МАФ, на клетки, зараженные тем же вирусом. Если МАФ разводили в 8 раз, то его активирующее действие на моноциты исчезало. Однако заключенный в липосомы МАФ активировал к противовирусному действию моноциты в дозах, в 1000 раз меньших, чем свободный препарат.

Разумеется, все это относится в первую очередь к тем вирусам, которые размножаются внутри макрофагов. В их число, кроме вируса герпеса, входит вирус везикулярного стоматита, желтой лихорадки, кори и др., а также ряд вирусов, вызывающих болезни животных. Успешная борьба с ними может дать колоссальный экономический эффект, исчисляемый миллиардами рублей. Удачные попытки лечить вирусные заболевания с помощью заключенных в липосомы препаратов уже имеются. Так, в 1983 г. были опубликованы работы, проведенные на мышах. Этих животных заражали вирусом долины Рифт, который размножается в макрофагах печени и центральной нервной системы. Контрольные животные погибали через 8 дней. У них развивались некротические очаги в печени и очаги воспалений в центральной нервной системе. Внутривенное введение подопытным животным липосом, содержавших МДП, оказывало значительное терапевтическое действие, что выражалось большим процентом выживших мышей, погибшие же прожили дольше контрольных. При этом лечебный эффект наблюдался даже в том случае, если лечение начинали спустя 5 дней после заражения животных. В

то же время внутривенное введение МДП в чистом виде даже в 100-кратных дозах было неэффективно. Это свидетельствует о том, что активация макрофагов липосомами с МДП подавляет репликацию вируса в клетках, тормозя тем самым распространение инфекции и снижая тяжесть заболевания.

Приведенные данные подводят нас к вопросу: почему же эти результаты не используются для лечения людей? Такие цели, безусловно, ставятся. Именно для этого и предпринимаются все описанные, а также и другие эксперименты. Однако на пути реализации этих достижений в клинике встает много проблем. Они связаны с некоторой токсичностью дериватов МДП и его самого, с подбором нужного состава липосом и пр. В настоящее время все эти методы находятся в процессе разработки. Так, в 1986 г. были опубликованы работы об испытаниях мурабутида (нетоксичного деривата МДП) на добровольцах в Египте. Было отмечено, что введение препарата переносилось хорошо и, кроме некоторой сонливости, никаких нежелательных явлений не вызывало.

ВВЕДЕНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПЕРОРАЛЬНО

В этой главе мы подходим к проблеме использования липосом для введения различных медикаментозных средств перорально (прием внутрь через рот). Пожалуй, ни в одной области, связанной с использованием липосом как носителей лекарств, не получено столько противоречивых данных и не возникло столько теоретических споров, как в этой.

Принято считать (и совершенно справедливо), что использование в терапевтических целях: целого ряда пептидов и других веществ лекарственного назначения путем их приема внутрь или введения в пищеварительный тракт искусственным путем нецелесообразно. Не успев всосаться, они подвергаются разрушению пищеварительными соками. К таким веществам следует прежде всего отнести инсулин, гормон, необходимый для усваивания глюкозы, конечного продукта многих углеводов, поступающих в организм с пищей. Инсулин синтезируется в клетках поджелудочной железы, и его недостаток или отсутствие приводит к тяжелому заболева-

нию — сахарному диабету. Диабетом в настоящее время болеют миллионы людей, в нашей стране имеется около 3 миллионов таких больных.

Сам инсулин представляет собой небольшой белок с молекулярной массой, равной 5700 дальтон. Он состоит из двух полипептидных цепей (А и В), соединенных между собой дисульфидными мостиками. Выделяют инсулин из ткани поджелудочных желез животных или же получают в ряде стран генноинженерным способом. Больным диабетом он вводится подкожно с помощью шприца, по нескольку раз в день. Но не все по тем или иным причинам могут сами себе впрыснуть инсулин и поэтому зависят от тех людей, которые им это делают. Кроме того, после секреции этого гормона поджелудочной железой в физиологических условиях инсулин попадает почти сразу в печень. Введение его под кожу меняет этот путь, что со временем приводит к неприятным осложнениям.

«Возмутителями спокойствия», решившими попробовать ввести инсулин перорально, оказались английские исследователи К. Патель и Б. Рима (1976 г.).

Эксперимент был проведен на крысах. У животных с помощью препарата стрептозотоцина был искусственно вызван диабет. После этого в рот крыс был введен заключенный в липосомы инсулин — по 5—10 единиц на каждое животное. В результате спустя час наблюдали уменьшение уровня глюкозы в крови на 40—60%. Сниженный уровень сахара поддерживался в крови у животных в течение 3 часов. Чистый инсулин в тех же дозах, введенный перорально, или же инсулин, не включенный внутрь, а просто смешанный с липосомами, как и чистые липосомы, снижения сахара в крови у животных не вызывали. Лишь введение 96 единиц этого гормона в чистом виде перорально (в 8 раз больше, чем в липосомах) уменьшало процент содержания сахара. Однако такое количество инсулина превышает предельно допустимую дозу, и, кроме того, препарат оказался очень дорогим. Интересно, что у здоровых крыс данный им перорально (заключенный в липосомы) инсулин снижал уровень сахара в крови не вызывая.

В этом же году были опубликованы результаты опытов Г. Грегориадиса и А. Дапелголеса, которые тоже работали с крысами диабетическими и нормальными и также проводили им лечение инсулином, заключенным в

липосомы. Патель и Риман отметили снижение уровня сахара в крови у диабетических крыс примерно на 40%, но в отличие от данных предыдущих авторов ими было отмечено и снижение уровня глюкозы у здоровых животных.

Результаты этих работ сразу привлекли к себе внимание исследователей в лабораториях разных стран, в том числе и в Советском Союзе. Ученые пробовали вводить липосомальные формы инсулина различным животным (мышам, кроликам, собакам). Применялись разнообразные виды инсулина (бычий, свиной). Словом, опыты велись в широком диапазоне. А в 1978 г. группа Пателя опубликовала результаты введения этого гормона в липосомах нескольким добровольцам. Следует подчеркнуть: данные исследований весьма противоречивы. Пока еще не удалось выявить каких-либо устойчивых закономерностей, позволяющих сделать выводы, как и в какой форме этот гормон может быть применен для лечения диабета у людей. Исследования в этом направлении продолжают до сих пор, так как сам способ введения инсулина весьма заманчив.

У читателей, наверно, возник естественный вопрос: каким образом инсулин в липосомах проникает через стенки кишечника? Защищают ли его липосомы от воздействия окружающей среды, если инсулин находится не внутри, а на их поверхности? Отчего зависит процент всасывания липосомальной формы инсулина?

Несмотря на проведенные многочисленные исследования, полной ясности в этих вопросах пока нет. Например, в ряде опытов было установлено повышение иммунореактивности этого гормона в крови после его перорального введения в липосомах, что указывает на его попадание в кровяное русло. Однако в некоторых случаях это почему-то не приводило к снижению уровня глюкозы в крови. Остаются нерешенными и другие загадки.

Исследуя возможности перорального введения лекарственных средств, ученые не ограничились одним инсулином. Так, голландские авторы во главе с Х. Ц. Хемкером пробовали лечить с помощью перорального введения лекарств в липосомах один из видов гемофилии — гемофилию А. Болезнь вызывается снижением уровня синтеза так называемого антигемофилического глобулина, или фактора VIII, что связано с генетиче-

ским дефектом, локализованным в X-хромосоме. Гемофилия А встречается только у лиц мужского пола и составляет около 80% всех известных гемофилий человека. Основными проявлениями заболевания являются кровотечения, которые наступают при малейшей травме, ушибе или порезе. Обычно больных лечат путем многократного введения им свежей донорской крови (фактор VIII разрушается через 6 часов при ее хранении).

Врачи проводили лечение больного гемофилией А, назначая ему для приема внутрь фактор VIII, заключенный в липосомы. В результате было отмечено временное (в течение трех дней) исчезновение симптомов заболевания. В чистом виде, то есть без липосом, прием внутрь фактора VIII лечебного действия не оказывал.

В 1985 г. были опубликованы работы японских авторов Н. Сакаругавы и других, которые вводили перорально в липосомах фактор VIII двум больным, страдающим гемофилией А. У обоих больных наблюдалось укорочение времени кровотечения и восстановление содержания в крови на 19—40% фактора VIII.

Японские исследователи во главе с М. Нагатой применяли таким же образом витамин К. Его дефицит называется на недостатке в организме протромбина — одного из веществ, участвующих в сложном механизме процесса свертывания крови. Отсутствие витамина К приводит к кровоточивости тканей, в результате нарушается целостность кровеносных сосудов. Авторы провели опыты на кроликах, у которых вызывали гипопротромбинемия путем введения животным соответствующих препаратов. После этого животным вводили препараты витамина К, заключенные в липосомы. При этом одной группе кроликов витамин К вводили в чистом виде внутривенно, а другой — этот же препарат перорально в липосомах. У обеих групп животных наблюдали восстановление свертываемости крови, однако липосомальные препараты оказались эффективнее.

В нашей стране были проведены работы с террилином. Это белок, энзим, относящийся к группе протеиназ. Он был открыт в 1956 г. академиком А. А. Имшенецким, который выделил его из гриба *Aspergillus niger*, синтезирующего террилитин. В Советском Союзе препарат террилитина выпускается в промышленных

масштабах и применяется для очищения раневых поверхностей, на которых имеются остатки размноженных тканей, возникшие при образовании раны. В дальнейшем было установлено, что террилитин обладает также прекрасным тромболитическим действием.

Советские исследователи Т. Н. Ковалева, Г. Д. Кобринский и другие попробовали вводить террилитин животным через желудочно-кишечный тракт. Однако и при этом способе введения препарат был слишком токсичен. Тогда стали его вводить в смеси с минеральным маслом. Этот способ позволил снизить токсические проявления террилитина и обнаружить проявление его тромболитического действия у кроликов, у которых заранее искусственно были созданы тромбы. Но для этого террилитин нужно было применять в очень высоких дозах (не менее 3—4 тыс. единиц на кг веса кролика). И опять на выручку пришли липосомы. Результаты проведенных экспериментов показали, что заключенный в липосомы террилитин при введении его перорально кроликам оказывал тромболитическое действие, которое выражалось в исчезновении тромбов, — в дозах, примерно в 10 раз меньших, чем при его введении в масляном растворе. Следует отметить и другое важное обстоятельство: лечение террилитинном приводило не только к лизису тромбов, но и к нормализации показателей крови.

До сих пор мы говорили об удачных экспериментах по пероральному применению различных липосомальных препаратов. Однако не меньшее число опытов, проведенных в разных лабораториях, не обнаружило пользы липосом при таком способе. Это обстоятельство побудило ученых заняться исследованиями, которые помогли бы прояснить создавшуюся картину. А вопросов накопилось немало.

Например, что происходит с липосомами при прохождении ими кишечного тракта, среда которого, несомненно, оказывает на них многоплановое воздействие? Каким образом липосомы «защищаются» от многочисленных ферментов, солей желчи, изменений pH среды в различных отделах пищеварительного тракта? Ведь путь их проходит через желудок, где имеется соляная кислота, фермент пепсин и другие вещества.

Попав в двенадцатиперстную кишку, они опять же

оказываются под влиянием множества ферментов, а также солей желчных кислот.

А что происходит дальше, в тонком кишечнике? Неужели липосомы способны противостоять такому множеству неблагоприятных воздействий?

Для того чтобы ответить на все эти вопросы, в лабораториях разных стран были предприняты многоплановые эксперименты, проведенные как вне, так и внутри организма животных. В итоге получено много доказательств того, что липосомы не способны облегчить переход заключенных в них веществ через стенки желудочно-кишечного тракта, что, кстати, вполне соответствует теоретическим воззрениям на этот вопрос. Тем не менее объективный подход к результатам описанных нами в начале этой главы опытов позволяет сделать недвусмысленный вывод: как и 25 лет тому назад, возможности использования липосом для перорального введения заключенных в них препаратов не исключаются. Иными словами, даже сегодня мы еще не все понимаем в механизме взаимодействия липосом с живыми клетками и тканями. И подчас опыты, поставленные вне организма, не дают тех же результатов внутри него. Необходимо и дальше изучать вопрос о пероральном введении липосом. Тогда можно будет заранее предсказать и их структуру, а также методы включения в липосомы нужных веществ.

ЛИПОСОМЫ — ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ АДЬЮВАНТЫ

Адьювантами называются вещества, способные усиливать иммуногенные свойства антигенов и тем самым повышать защитные реакции организма. В качестве адьювантов используются различные вещества: алюминиевые квасцы, гидроксид алюминия, вакцина БЦЖ и один из самых мощных и широко употребляемых в экспериментах — адьювант Фрейнда (названный так по имени американского исследователя, его создавшего). Все они применяются в лабораторных опытах для усиления иммуногенности веществ, предназначенных для иммунизации животных. С этой же целью их можно использовать и для получения иммунных сывороток животных в промышленных масштабах. Однако адьюванты почти не применяются при проведении иммунизации

ввиду присущих им нежелательных побочных реакций. Во многих случаях это снижает эффективность вакцинации, в особенности если сама вакцина слабо иммуногенна (например, вакцина против гриппа, холеры и пр.).

Известно, что вакцины, в состав которых входят цельные микроорганизмы, бактерии или вирусы, часто, помимо иммунитета, дают и нежелательные реакции, которые иногда могут быть весьма тяжелыми. Это побуждало ученых заняться поисками и очисткой отдельных антигенов микроорганизмов, на которые падает основная «ответственность» за выработку иммунитета. Такие антигены, как правило, входят в состав внешней оболочки бактерий или вирусов. Использование очищенных антигенов позволило бы, по мнению ученых, значительно снизить токсические проявления, вызываемые введением обычных вакцин. Однако внедрение таких антигенов в практику здравоохранения в значительной степени тормозится из-за их более слабой иммуногенности по сравнению с иммуногенностью цельной вакцины. А нам весьма важно иметь такие адъюванты, которые были бы не только безвредными, но и сильными.

Впервые с адъювантными свойствами липосом столкнулся А. Аллисон, исследователь из Международной лаборатории изучения болезней животных (Найроби, Кения). Стремясь избежать проявления антигенных свойств некоторых ферментов, которые нужно было ввести в организм животных, он заключал их в липосомы. Но вопреки ожиданиям титры антител после введения фермента (белка) в липосомах были выше, чем при введении его в чистом виде. В дальнейшем ученый специально стал исследовать этот вопрос, а в 1974 г. Аллисон с сотрудниками впервые опубликовали статью об адъювантных свойствах липосом. Работа была ими проведена на мышах, которым вводили дифтерийный токсин. Затем авторы сравнили липосомы с адъювантом Фрейнда (при введении он образует гранулы) и отметили, что липосомы таких гранул не образуют. Не происходит и других нежелательных реакций.

Такие работы сразу обратили на себя внимание ученых и побуждали более тщательно исследовать адъювантные свойства липосом. Первые исследования такого плана были выполнены в лаборатории Грегориадиса. Авторы работали с поверхностным антигеном вируса

гепатита В, который встраивали в большие мультимеллярные липосомы, состоящие из фосфатидилхолина и холестерина с рядом других добавок для придания липосомам определенного заряда. Введение этого антигена в липосомах морским свинкам вызвало у них подъем титра антител в 750 раз более высокий, чем при иммунизации такой же дозой чистого антигена.

Принципиальное по значению исследование провела группа Алмейда. Авторы встроили в поверхность липосом белки поверхности вируса гриппа: гемагглютинин и нейраминидазу. При этом антигены равномерно располагались на поверхности частицы вируса. Такие липосомы (авторы называли их виросомами) не уступали по иммуногенным свойствам цельному вирусу. Но в отличие от него они оказались непиогенны (не вызывали повышения температуры). Эти эксперименты показали принципиальную возможность конструирования вакцин из липосом, на поверхности которых, как и у вирусов, имеются соответствующие антигены.

Во многих работах авторы стремились изучить условия, которые бы способствовали усилению адъювантного эффекта липосом. Некоторые из исследователей пришли к выводу, что молекулы антигена, которые не «выставлены» на липосомной поверхности, а находятся внутри самих пузырьков, не вызывают иммунного ответа. Однако исследования других авторов, использовавших в работе другие антигены, этого не подтвердили.

Для проявления адъювантного действия весьма существенно, чтобы липосомы, несущие антигены, смогли беспрепятственно «дойти» до клеток РЭС. Лучше, если клетки не будут «сопротивляться» липосомам. Как известно, поверхность клеток несет на себе главным образом отрицательный заряд, который обусловлен имеющимися там окончаниями сиаловых кислот. Поэтому положительно заряженные липосомы будут легче доходить до поверхности нужных клеток, чем нейтральные или же отрицательно заряженные. Такие варьирующие показатели, как размеры липосом, поверхностные характеристики, структура липидов, из которых они приготовлены, текучесть мембраны (которая зависит от их фазового состояния), локализация и природа встроенных в них антигенов, способ введения в организм, вид животного (на котором изучаются адъювантные свойства липосом), несомненно, также следует учитывать.

Пытаясь усовершенствовать липосомы, ученые про- бовали менять их состав. Оказалось, что липосомы (по сравнению со всеми другими адъювантами) демонстри- руют большую структурную и функциональную много- сторонность. Но лучшими признаны все же липосомы, приготовленные из фосфатидилхолина, который пред- ставляет собой нормальный ингредиент клеточных мембран. Он безвреден, хорошо биodeградируется и, что очень важно, почти не вызывает против себя иммун- ных реакций организма. Следует подчеркнуть, что фос- фатидилхолин пригоден и для внутривенного введения. А для того чтобы вызвать против фосфатидилхолина иммунные реакции, в его состав вводят другие вещест- ва, например липид А, который представляет собой ли- пидную часть очень сильного адъюванта — бактериаль- ного липополисахарида.

Однако во всем этом имеется и теневая сторона. Следует не забывать, что адъювантное действие липо- сом может быть направлено против всех заключенных в них веществ, и в том числе против многих лекарств. В частности, серьезные опасения вызывает намерение вво- дить в липосомах инсулин, поскольку в лечебных це- лях это надо будет делать многократно. Не исключено, что липосомы могут способствовать выработке иммун- ных реакций против этого гормона. Не стоит сомне- ваться, что это свойство учитывается теми, кто работа- ет с липосомальным инсулином, что для безвредного его введения в липосомах принимаются соответствующие меры.

ИММУНИЗАЦИЯ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ БАКТЕРИЯМИ

В 1985 г. была опубликована работа Деидеро из Нью-Йоркского отделения микробиологии, в которой ав- тор использовал липосомы для иммунизации животных против мышинного брюшного тифа, вызываемого *Salmonella typhimurium*. Микроб способен жить и размножаться внутри клеток ретикулоэндотелиальной системы, что защищает его от иммунных реакций орга- низма и воздействия химиотерапевтических средств, и в частности от антибиотиков. Основной вид иммунитета при данном заболевании — клеточный, опосредуемый

через лимфоциты. Вирулентность *S. typhimurium* связа- на с О-антигенным полисахаридом. Сама О-полисаха- ридная цепь обладает слабыми иммуногенными свойст- вами и весьма токсична. Были сделаны попытки синте- за вакцины, которая содержала бы О-антигенные deter- мианты, но не имела бы токсичности цельного антиге- на. Такая вакцина была создана. Она вызывала у жи- вотных хороший подъем антител, однако ее способность активировать клеточный иммунитет была выражена слабо. Вот почему было решено использовать для имму- низации липосомы. Был приготовлен препарат, содер- жавший липополисахарид *S. typhimurium* в липосомаль- ной форме, после чего проведено испытание его имму- низационной способности. Объектом испытания служи- ли мыши. Для сравнения использовали убитую и жи- вую вакцину против этой же бактерии. Результаты экс- периментов показали, что вакцинация мышей липосом- ными комплексами вызывала специфический клеточный иммунный ответ, сила которого проверялась путем зара- жения мышей смертельными дозами вирулентных штам- мов бактерий. Иммунный ответ был сильнее, чем после иммунизации мышей убитой вакциной, и не менее выра- женным, чем после иммунизации живой вакциной. Од- нако иммунизация живой вакциной против возбудите- лей мышинного брюшного тифа во многих отношениях нежелательна: она вызывает побочные реакции орга- низма, да и само введение ослабленных, но все же жи- вых возбудителей заболевания связано с определенным риском. Данное обстоятельство всегда следует учиты- вать при создании препарата для вакцинации людей (возбудители мышинного брюшного тифа для них тоже патогенны).

В 1986 г. была опубликована работа нидерландских исследователей (В. Джискоота и др.), посвященная изучению иммуногенных свойств антигена РІ, выделен- ного из возбудителей гонорреи — гонококков. Белок РІ инкапсулировали в липосомы, его иммуногенные свойства были испытаны на мышах. Результаты экс- периментов показали, что липосомы усиливали иммуно- генные свойства этого антигена по сравнению с такими же свойствами свободного РІ.

Советские специалисты провели изучение иммуно- генности живой противочумной вакцины, заключенной в липосомы. Опыты проводились на морских свинках —

животных, высоко восприимчивых к чуме. Результаты показали, что липосомальная форма вакцины позволяет существенно снизить величину иммунизирующей дозы. Другие опыты, проведенные на мышах, показали, что заключение в липосомы материала, используемого для иммунизации, снижает их токсичность.

В 1985 г. были опубликованы результаты исследований группы академика АМН СССР К. П. Кашкина из ИЭМ им. Гамалеи АМН СССР. Авторы включали в липосомы антиген бруцелл, представляющий собой белково-полисахаридный комплекс, участвующий в создании иммунитета против этого заболевания. В отличие от самих бруцелл такой комплекс безвреден, и его введение не вызывает отрицательных реакций со стороны организма. Испытание иммуногенности липосомальной формы комплекса (БПА) проводили на морских свинках. Результаты проведенных экспериментов свидетельствуют о том, что липосомальная форма БПА вызывает у животных более длительный иммунный ответ, чем у морских свинок, иммунизированных только чистым БПА.

ИММУНИЗАЦИЯ ЛИПОСОМАЛЬНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ ПРОТИВ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ПРОСТЕЙШИМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

В 1987 г. вышла в свет работа индийских авторов, которые испытали возможность создания невосприимчивости против возбудителей амебиаза, вызываемого дизентерийной амемой, относящейся к классу патогенных простейших микроорганизмов. Амелиаз широко распространен во всем мире, в особенности в странах с тропическим и субтропическим климатом (здесь уровень заболеваемости амелиазом достигает 20—30% от общего числа больных кишечными инфекциями). В Советском Союзе амелиаз встречается в республиках Средней Азии и Закавказья, где он достигает 5—10% заболеваемости населения кишечными инфекциями. Ведущим симптомом этой болезни является образование абсцессов в печени.

Из экстракта разрушенных микроорганизмов, вызывающих амелиаз, авторы получили фракцию VFI и заключили ее в липосомы. Этими липосомами были затем

проиммунизированы хомячки — животные, служащие моделью амелиной дизентерии. Для проверки невосприимчивости животных по прошествии соответствующего периода времени заражали вирулентным штаммом *E. histolytica*, после чего отмечали число заболевших хомячков. Опыты показали, что иммунизация липосомальной формой VFI полностью защищала хомячков от развития заболевания. Решающим показателем силы приобретенного иммунитета было отсутствие в печени животных каких-либо повреждений, связанных с амелиазом, в ней не оказалось также и возбудителей заболевания. Следует отметить, что такие же результаты были получены у хомячков при иммунизации их фракцией VFI, смешанной с адьювантом Фрейнда. Однако уровень антител против *E. histolytica* у этих групп животных был ниже, чем у тех, которых иммунизировали антигеном, заключенным в липосомы. Иммунизация животных свободной фракцией VFI была малоэффективна.

Данные, полученные исследователями, имеют, помимо научного, и большое практическое значение: появилась возможность создания качественной вакцины против амелиной дизентерии.

Следует остановиться на работах ученых ФРГ и Великобритании, опубликованных в 1988 г. Авторы изучали возможность создания липосомальной вакцины для предупреждения лейшманиоза, которой до недавнего времени не было. Правда, незадолго до публикации этой работы другими исследователями были проведены опыты по иммунизации мышей неочищенными экстрактами, извлеченными из возбудителей лейшманиоза, находящихся на разных стадиях своего развития, а также из живых лейшманий, полученных на той стадии, когда они пребывают в кишечнике москита, передающего это заболевание человеку. Однако опыты выявили существенный недостаток этих материалов для иммунизации: их введение в ряде случаев вызывало у животных возникновение заболевания, а не защиту от него.

В описываемой работе авторы использовали липосомы. В них были заключены антигены, полученные от лейшманий.

Опыты, проведенные авторами на лабораторных животных, продемонстрировали, что липосомальная форма антигенов после своего введения вызывает высокий уровень защиты у животных против лейшманиоза и не

способствует усилению заболевания у них. Следует отметить, что достаточно прочного иммунитета удавалось добиться даже при введении весьма малых доз антигенов.

В 1978 г. вышла работа Сиддиква с сотрудниками. Авторы использовали липосомы для создания иммунитета против малярии. В качестве антигена служили зрелые сегменты возбудителя малярии *Plasmodium falciparum*, которые и вводили внутрь липосом. Иммунизация этим материалом мышей и ночных обезьян дуркули защищала этих животных от заболевания, вызываемого введением им *P. falciparum*, тогда как проведение иммунизации антигенами в чистом виде оказалось неэффективно.

Другие исследователи в последующем в принципе подтвердили эти данные. Они работали с более высокоочищенным, а следовательно, более однородным материалом, главным антигеном спорозонта (так называется стадия жизненного цикла возбудителя малярии в период его нахождения в желудке переносчика малярии, комара рода *Anopheles*). Антиген этот покрывает внешнюю поверхность спорозонта и является по своей химической структуре белком. Была расшифрована последовательность аминокислот, составляющих этот белок, что позволило осуществить химический синтез того участка, в который входят антигенные детерминанты. В предварительных экспериментах, проведенных авторами на мышах, полученный антиген был неиммуногенен. После заключения его в липосомы и проведения полученной липосомальной формой иммунизации животных этот антиген показал выраженные иммуногенные свойства. Длительность сохранения антител в крови у животных достигала нескольких месяцев.

СОЗДАНИЕ ИММУНИТЕТА ПРОТИВ ВИРУСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В 1984 г. были опубликованы работы П. Перрена с сотрудниками из Отделения исследования бешенства парижского Института Пастера. Идея, которой руководствовались авторы при проведении исследований, сводилась к следующему: ввиду того, что большинство антирабических вакцин готовятся из ослабленных штам-

мов фиксированного вируса бешенства, они могут быть несвободны от субстанций, представляющих собой определенный потенциальный риск. В частности, в них содержатся нуклеиновые кислоты. Кроме того, сам живой фиксированный вирус бешенства, используемый для вакцинации, может теоретически вернуть себе патогенные свойства прежнего уличного вируса. Наконец, антирабическая вакцина, если она приготовлена из ткани мозга животных, иногда вызывает тяжелые осложнения. К тому же известно, что иммунный ответ возникает главным образом к расположенному внутри и на поверхности вируса «главному полипептиду» (полипептиду G). Этот белок можно экстрагировать из вируса и получить в очищенном виде. Однако, как показали опыты, проведенные на животных, сам полипептид не вызывает достаточно сильного иммунного ответа.

Перрен с сотрудниками создали иммуносомы (или, точнее, иммунолипосомы), в которые был включен гликопротеин G примерно так же, как он встроен в поверхность вируса бешенства. Иммуногенность полученных иммунолипосом проверяли на мышах. Опыты показали, что иммунолипосомы с белком G на своей поверхности вызывали у мышей более высокие титры противовирусных антител, чем при введении им свободного полипептида.

Поскольку бешенство является смертельным заболеванием для человека, возможность усиления иммуногенности антирабической вакцины — дело очень важное.

Сотрудники НПО биотехнологии Минмедмикробиопрома СССР и Института вирусологии АМН СССР им. Д. И. Ивановского С. В. Грибенча, Г. Д. Кобринский и другие провели изучение иммуногенности липосомальной формы культуральной антирабической вакцины. Опыты ставились на мышах, которых иммунизировали как обычной культуральной вакциной, так и вакциной, заключенной в липосомы. Через соответствующие промежутки времени животных заражали вирусом бешенства. Результаты, полученные авторами, свидетельствуют, что липосомальная форма вакцины вызывала у мышей более высокий иммунитет, чем после введения обычной культуральной вакцины.

В 1987 г. индийские исследователи опубликовали результаты экспериментов по созданию невосприимчиво-

сти к ящуру. Ящур — тяжелое заболевание, вызываемое вирусом, который поражает крупный и мелкий рогатый скот. Болеют ящуром и люди, заразившиеся от животных. Применяющаяся в практике вакцина против этого заболевания вводится в минеральном масле и является весьма реактогенной. Индийские авторы попробовали создать невосприимчивость к ящуру с помощью иммунизации животных частичками убитого вируса, заключенными в липосомы. Опыты были проведены на морских свинках. Полученные результаты свидетельствуют, что вакцина в липосомах вызывала у животных достаточно напряженный иммунитет против заболевания. Она хорошо защищала их от заражения смертельными дозами вируса. Кроме того, в отличие от масляной вакцины липосомальная вакцина могла вводиться в значительно больших дозах, что важно для усиления ее иммуногенности.

В 1988 г. была опубликована работа группы авторов из Кардиологического научного центра АМН СССР, Института биохимии АН Узбекской ССР и Московского института вирусных препаратов Минздрава СССР. Авторы изучали свойства липосомальной вакцины против вируса гриппа. Необходимость создания такой вакцины диктуется тем, что используемая в практике противогриппозная вакцина недостаточно иммуногенна. В 1980 г. Грегориadis, стремясь усилить иммуногенные свойства антигенов поверхности вируса гриппа, включил их в поверхностные слои липосом. Введение вызвало у животных более высокий подъем антител, чем при введении этих антигенов в чистом виде. Однако возможность защиты от заражения самим вирусом гриппа авторами испытана не была.

Советские авторы инкапсулировали в липосомы те же самые антигены поверхности вируса гриппа и испытывали их иммуногенные свойства на мышях, которых заражали вирулентным штаммом вируса гриппа. Опыты показали, что введение животным заключенных в липосомы антигенов в полость носа давало наиболее высокий уровень защиты: титр вируса в легких этих животных был в 1000 раз ниже, чем у контрольных, которым иммунизацию не проводили. Значительно меньше снижался титр вируса в легких мышей при их иммунизации свободными антигенами. Примерно такие же результаты были получены и при назначении животным

антигенов внутрибрюшинно. Применение пустых липосом оказалось неэффективным во всех случаях.

Защитный эффект, полученный введением животным липосомальных форм антигенов, по своей силе был сравним с тем, который был получен при иммунизации мышей интактными частицами вируса гриппа. Однако последние не могут использоваться для массовой вакцинации населения из-за частых тяжелых поствакцинальных осложнений.

Анализ результатов опытов, представленных в этой главе, позволяет прийти к выводу, что свойства липосом могут найти практическое применение для усиления иммуногенности вакцин не только в медицине, но и в ветеринарии. Не исключено, что с помощью липосом можно будет создать новые вакцины, так как они способны превращать слабоиммуногенные антигены в высокоиммуногенные. Липосомы могут позволить использовать даже антигены, плохо растворимые в воде. Они снижают токсичность прививочного материала без ущерба для его иммуногенных свойств. С помощью липосом можно будет достичь более продолжительного состояния невосприимчивости к заболеваниям, вызываемым микроорганизмами.

ЛИПОСОМЫ И ИНДУКТОРЫ ИНТЕРФЕРОНА

Интерфероны — это белки, синтезируемые клетками позвоночных животных при воздействии на них вируса. Они связываются с клеточной мембраной здоровых клеток и придают им невосприимчивость к заражению этим же или другими вирусами. Известно, что вирусные болезни, за небольшим исключением, не поддаются лекарственной терапии. Препараты интерферона относятся к редким медикаментозным средствам, которые способны воздействовать на такие инфекции.

В настоящее время во многих развитых странах налажен промышленный выпуск интерферонов. Ими широко пользуются не только для лечения, но и для предупреждения вирусных заболеваний (например, гриппа). Однако пока еще этот препарат сравнительно дорог. Кроме того, он обладает весьма существенным недостатком: после введения очень быстро (буквально в считанные часы) выводится из организма. Получение терапевтического эффекта возможно поэтому только

при очень частом введении интерферона (по несколько раз в день). Это довольно неудобно, да и весьма дорого.

Известно, что гораздо выгоднее было бы вводить не интерферон, а его индукторы. К ним относятся различные вещества, многие из которых намного дешевле, чем интерферон. Кроме того, введение индукторов, вызывающих в организме синтез интерферона, позволяет значительно удлинить по времени его присутствие в организме. Однако почти все индукторы непригодны для клинического использования главным образом ввиду своей токсичности.

Весьма сильными индукторами интерферона являются нуклеиновые кислоты и среди них — двунигетевая РНК синтетического или природного происхождения. В частности, для этой цели используются синтетические РНК, такие, как полицитидиловая (поли Ц), полигуаниловая (поли Г), полиадениловая (поли А), полиозиловая кислоты (поли И) и др.

В 1974 г. Штрауб с коллегами приготовили липосомы, в которые включали РНК. Введение таких липосом усиливало у мышей выработку интерферона. Эти данные были подтверждены и в других лабораториях.

Интересные исследования проведены коллективом сотрудников Института вирусологии АМН СССР им. Д. И. Ивановского, возглавляемым Ф. И. Ершовым. Они изучали результаты введения высокомолекулярных полинуклеотидов перорально. Известно, что полинуклеотиды, введенные в пищеварительный тракт, разрушаются имеющимися там ферментами и потому интерферогенного действия не оказывают. Однако пероральное введение комплексов поли Ц, а также поли Г в липосомах привело к другим результатам. Через 4 часа после введения мышам этих индукторов интерферона в их крови было обнаружено присутствие интерферона в титрах 1 : 320 — 1 : 2800. Примерно такие же его титры были получены после внутрибрюшинного введения индукторов в липосомах. Без липосом пероральное введение тех же доз индукторов давало титр интерферона, равный 1 : 20, а внутрибрюшинное их введение титр 1 : 160 — 1 : 320.

Механизм усиления интерферогенной активности у вышеперечисленных препаратов при заключении их в липосомы полностью не ясен. По всей видимости, он

как-то связан с прохождением липосомальной формы индукторов интерферона через кишечную стенку. Во всяком случае, пероральный способ введения индукторов интерферона, заключенных в липосомы, открывает возможность не только к сохранению способности вызывать образование интерферона, но и к снижению их токсичности.

ФЕРМЕНТОТЕРАПИЯ

Лечение заболеваний, обусловленных ферментной недостаточностью у людей, связано со множеством проблем. В ответ на введение ферментов могут, в частности, возникнуть иммунные реакции организма, которые способны не только инактивировать введенный фермент, но и подвергнуть опасности жизнь больного. Существуют и другие нежелательные аспекты введения ферментов (например, их действие на субстраты не в тех местах, где это необходимо).

Транспорт активных веществ липосомами в лизосомы (лизосомы — места внутри клеток, где сконцентрированы клеточные ферменты) создает уникальную возможность применения этого носителя для лечения заболеваний, которые характеризуются недостаточностью или же полным отсутствием какого-либо лизосомального фермента. В результате этого вещества, служащие в норме субстратом данного фермента, начинают накапливаться в лизосомах, вызывая заболевание.

В 1971 г. Г. Грегориadis с коллегами приготовили липосомы с ферментом аминоглюкозидазой. Эти липосомы они смешали с радиоактивно меченым альбумином. После введения смеси мышам с помощью радиоактивной метки было установлено, что смесь попадала в лизосомы клеток печени и что лизосомальная фракция клеток — центр пребывания липосом.

Немногим более десяти лет назад было доказано, что липосомы могут быть использованы в качестве контейнеров для включения в клетки фермента инвертазы, который гидролизует превращение сахарозы во фруктозу. Опыты проводились на инвертазодефицитных макрофагах мышей и на фибробластах человека, страдающего гликогенолизом (также дефицитных по этому ферменту). Предварительно в клетки вводили сахарозу, меченную радиоактивным углеродом. Из-за недостаточно-

сти фермента в этих клетках введенный сахар не нормально метаболизируется. Успешный перенос с помощью липосом инвертазы в клетки был доказан появлением способности у них гидролизовать углевод сахарозу во фруктозу.

Одним из лизосомальных заболеваний, служащим удобным объектом для испытания эффективности липосом, является заболевание, которое было открыто в 1882 г. французским врачом Ф. Ш. Гоше (оно названо его именем). Болезнь передается по наследству и характеризуется недостаточностью в клетках больных глюкоцереброзида и β -гликозидазы. Пораженные клетки относятся в основном к тем, которые наиболее активно захватывают липосомы.

Группа исследователей в течение 10 лет вводила пациентам, страдающим болезнью Гоше, липосомы с заключенными в них ферментами (β -глюкоцереброзидазой). Данный вид заместительной ферментотерапии значительно увеличивал продолжительность жизни больных.

Весьма важно, чтобы, попав внутрь цитоплазмы клеток, липосомы отдали свое содержимое быстро и полностью. Это нужно для эффективности лечения инфекционных и онкологических заболеваний и совершенно необходимо для проведения заместительной терапии. Причем в этом случае желательно, чтобы липосомы с заключенными в них ферментами распались в районе местонахождения лизосом. Оказывается, в настоящее время решать такие задачи вполне возможно.

ЛИПОСОМЫ И ГОРМОНЫ

Липосомы могут также увеличить эффективность гормонотерапии. Так, группа А. Джэксона из Балтиморского университета (США) показала, что введение крысам в течение 4 недель в липосомальной форме гормона диэтилstilбестрола, который применяется для лечения опухолей предстательной железы, приводило к значительному уменьшению веса этой железы у животных по сравнению с введением нелипосомального препарата контрольной группе крыс. В экспериментах была также продемонстрирована возможность уменьшения доз гормонального препарата при заключении в липосомы без снижения его эффективности.

Теперь о результатах лечения другого заболева-

ния — ревматоидного артрита. Это мучительное, уродующее скелет заболевание. Симптомы болезни — боли, ограничение подвижности и потери функций суставов.

Наиболее эффективные средства лечения ревматоидного артрита — гормональные препараты (в частности, кортикостероиды). Однако длительное применение их приводит к нежелательным побочным эффектам. Кроме того, вследствие небольшой разницы между терапевтической и токсической дозой кортикостероидов применение гормонов ограничено. Поэтому практика применения кортикостероидов для внутрисуставного введения при ревматоидном артрите все еще остается спорной. Вот почему было высказано предположение, что местное лечение с помощью липосом позволит использовать очень малые дозы противовоспалительного стероида и соответственно уменьшит его действие на организм.

Предварительные исследования по оценке противовоспалительного действия включенного в липосомы стероида были проведены на кроликах. У животных искусственно вызывали экспериментальный артрит. Сустав, в который вводили липосомы, сравнивали с противоположным суставом, в который липосомы не вводили.

После внутрисуставного введения липосом, содержащих пальмитат кортизона, наблюдали постепенное уменьшение диаметра пораженного сустава и температуры кожного покрова. Противовоспалительное действие продолжалось 3 дня. Введение липосом, не содержащих стероид, фармакологического действия не оказывало. Также было неэффективно введение чистого стероида. Опыты показали, что в пересчете на массу тела животных эффективная терапевтическая доза вводимого гормона может быть снижена в 30—50 раз!

Эти результаты послужили основой для проведения первых клинических испытаний на больных с ревматоидным артритом. Они были проведены в 1979 г. Внутрисуставное введение пальмитата кортизона привело к улучшению как субъективных ощущений, так и объективных показателей воспаления пораженных суставов.

Советский исследователь из Киевского НИИ ортопедии Н. К. Терновой в опытах на животных показал, что иммобилизованный в липосомах гидрокортизон при внутрисуставном введении обладает противовоспали-

тельной активностью, в 50—100 раз превышающей свободный препарат. В 1986 г. его группа провела внутрисуставное введение липосомальной формы гидрокортизона 17 больным ревматоидным артритом (6 мужчинам и 11 женщинам) с преимущественным поражением крупных суставов. Авторы получили положительный эффект уже на второй день после введения препарата. В итоге проведенного лечения выраженное терапевтическое действие было отмечено у 15 больных. У остальных двух положительный эффект оказался менее выраженным.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛИПОСОМ В ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МЕТОДАХ

Остановимся вначале на методах иммунодиагностики. Они основаны на следующих приемах: если в поверхность липосом встроить соответствующие антигены, то можно подобрать условия, когда в присутствии антител (а также комплемента) такие липосомы будут разваливаться. Представим теперь, что внутри липосом находится какая-нибудь краска. В этом случае при разрушении липосом в присутствии антител эта краска выйдет наружу и станет видимой даже невооруженному глазу. Подобная система в принципе весьма упрощает ответ на вопрос о том, произошла или не произошла иммунологическая реакция. Точно так же будут вести себя липосомы, если к их поверхности «прикрепить» те или иные антитела. Тогда они «развалятся» в присутствии соответствующих антигенов.

Основанные на этих принципах реакции с использованием липосом могут быть использованы для диагностики таких заболеваний, как ревматизм, эритематозная волчанка, некоторые формы нефритов и др. В таких случаях при разрушении целостности липосом в результате соединения на их поверхности антител и антигенов в присутствии комплемента происходит развал липосом, внутри которых содержится какой-нибудь фермент. Его присутствие в среде очень быстро фиксируется с помощью спектрофотометра.

Интересный высокочувствительный метод диагностики сифилиса был предложен в 1986 г. Установлено, что при попадании в организм человека возбудителя сифилиса (бледной спирохеты) в крови у больных обра-

зуется комплекс антител, называемый «реаген». Он обладает свойством прочно связываться с фосфолипидом кардиолипином, который традиционно используется как антиген для диагностики сифилиса в лабораторных тестах. Исследователи использовали липосомы, «сконструированные» из кардиолипина, лецитина и холестерина, содержащие какую-нибудь краску. При смешивании таких липосом с сывороткой крови больного сифилисом происходит соединение реагена сыворотки и кардиолипина липосом. Последние разрушаются, и краска выходит наружу. Все это происходит за какие-нибудь 3—5 минут. Реакция хорошо видима простым глазом (время, требуемое на постановку традиционных диагностических тестов, во много раз больше).

Остановимся на применении липосом в рентгенодиагностике. Речь идет об использовании для этой цели йодсодержащих рентгеноконтрастных веществ. Известно: они не могут избирательно накапливаться в нужных областях организма, кроме того, большинство из них обладает высокой токсичностью. Все это заставило искать подходы к оптимизации введения указанных веществ. Один из них был предложен ленинградскими учеными, которые решили использовать для рентгенодиагностики препарат вераграфин, заключенный в липосомы. Опыты, проведенные на животных (кошках и собаках), которым внутривенно вводили липосомальную форму вераграфина (в дальнейшем этот препарат получил название «липотраст»), показали возможность получения длительного (до 10—12 часов) контрастного изображения печени и селезенки. Испытание препарата на стандартной рентгеновской аппаратуре продемонстрировало, что с его помощью можно проводить диагностику абсцессов, опухолей, разрывов и инфарктов печени и селезенки гораздо качественнее, чем при использовании чистого вераграфина. Контрастность изображения липотраста по сравнению с вераграфинем возрастала в 4—5 раз. Заключение в липосомы позволило снизить токсичность препарата и увеличить его накопление в органах.

В настоящее время липотраст проходит испытания в клинике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты многочисленных экспериментов, с которыми мы познакомили читателей, красноречиво свидетельствуют о многих полезных свойствах липосом — этих сравнительно примитивных образований, пузырьков, приготовленных из фосфолипидов. Обычно примитивизм в строении определяет недолгий интерес к таким веществам. Однако это не касается липосом. Чем больше времени проходит со дня их открытия, тем более пристальное внимание они к себе вызывают. Отнести это следует к удивительным свойствам липосом, которые по мере их изучения открываются перед нами.

Напрашивается вполне правомерный вопрос: когда мы сможем наиболее полно воспользоваться уникальными возможностями носителей лекарств, иными словами, когда липосомы смогут широко применяться в медицинской практике?

Еще 2—3 года тому назад точный ответ на этот вопрос получить было непросто. Мешали проблемы промышленного получения препаратов, неясно было, какой путь следует избрать для их стерилизации, не были окончательно решены задачи их длительного хранения.

Сегодня положение изменилось в лучшую сторону. Некоторые из липосомных лекарственных препаратов уже увидели свет.

Одной из первых выпустила такой препарат французская фирма «Кристиан Диор». Произошло это в 1986 г. Она назвала его «каптюр». Это крем, предназначенный для омоложения кожи лица. В него входят гидролизаты коллагена, α -гиалуроновая кислота и другие компоненты, и среди них — экстракт тимуса в липосомах. Фирма «Рёем» из ФРГ стала выпускать липосомный препарат для борьбы с расширением вен. Итальянская фирма «Фидия» выпустила лекарственный препарат «липосом-форте» для стимуляции гипофиза (он вводится внутривенно). ФРГ фирма «Виторган» выпустила липосомный гомеопатический препарат найпарадент для лечения пародонтоза. В США одна из фирм уже проводит клинические испытания препарата амфотерцина В в липосомах для лечения лейшманиоза и грибковых заболеваний. В США и в Израиле готовится к выходу в практику липосомный препарат для лечения новообразований. В США находятся в разработке липо-

сомные бронхолитические препараты, а также предложено использовать липосомы для покрытия контактных линз, что в значительной степени уменьшает раздражение поверхности глаза, возникающее от их ношения.

В Советском Союзе также работают над созданием липосомных лекарственных препаратов. Один из них — липотраст, о котором мы писали, проходит клинические испытания. Проходит клинические испытания и препарат липин. Он предназначен для снижения уровня продуктов окисления в тканях внутренних органов и в крови, препарат обладает также и бронхолитическим действием. На подходе к клиническим испытаниям находятся и другие липосомные препараты.

Неожиданное применение нашли липосомы в Японии. Здесь на их основе собираются производить бумагу, которая меняет свой цвет в зависимости от изменения температуры окружающей среды. Японцы решили вводить липосомы в состав красящих веществ для фотокопировальных приборов.

Огромную финансовую прибыль сулит новый метод культивирования живых клеток в промышленных масштабах без добавления в среду очень дорогой и дефицитной телячьей сыворотки. Ее с успехом заменяют липосомы.

В ФРГ разработана микстура, также содержащая липосомы. Она имеет хорошие перспективы быть использованной в области генной инженерии. С помощью микстуры процент «попадания» пересаживаемых генов в геномы соответствующих клеток возрастает во много раз. В лабораторных условиях удалось «вывести» так называемых трансгенных кроликов. Этим животным на стадии одноклеточного зародыша с помощью липосом ввели в клетку дополнительные гены. Таким способом можно ввести, например, гены, влияющие на рост животных, на состав их мышечной ткани («мяса»), шерсть.

Наконец, в США и в Европе разработаны новые моющие средства, которые не загрязняют окружающую среду. Эти свойства они приобрели во многом потому, что в их состав вошли липосомы.

Все сказанное свидетельствует о том, что диапазон применения липосомных средств все более расширяется и мы вскоре станем свидетелями раскрытия все более широких возможностей использования липосом во многих областях науки и практики.

Прошедший в октябре 1988 г. Всесоюзный съезд врачей выявил многие теневые стороны состояния нашего здравоохранения. Съезд, однако, не только зафиксировал свое внимание на недостатках в деятельности службы здоровья, но и наметил пути к их устранению. Об этом шел разговор между заместителем министра здравоохранения СССР А. М. Москвичевым и нашим корреспондентом И. Горделяном.

ВРЕМЯ ДЕЙСТВОВАТЬ

— Алексей Михайлович, хорошо известно, что от компетентности врача, его профессионализма в немалой степени зависит успех лечения. Недаром с такой теплотой вспоминаем мы земских врачей, подвижников своего дела. И несмотря на то что с тех пор резко поменялся характер медицины, проблема домашнего, или семейного, как сейчас принято говорить, доктора остается по-прежнему актуальной...

— Да, наши участковые терапевты не всегда хорошо справляются с обязанностями домашнего врача. Видимо, мы не совсем правильно их готовили и готовим, может быть, и сейчас в медицинских вузах.

Недавно нашим министром подписан приказ, дающий право населению выбирать врача, который будет оказывать помощь ему в поликлинике и при необходимости в домашних условиях. То есть речь идет о свободном выборе врача, которого конкретный больной предпочитает больше и с которым у него складываются взаимно доверительные отношения.

— Но не получится ли так, что к одному врачу, рекомендовавшему себя как специалист высокой квалификации, будет наплыв, а к другому — никто не захочет идти. Какая-то компенсация предусматривается тем врачам, которым, естественно, придется больше работать?

— Безусловно, такие врачи соответственно будут и больше получать. С этой целью предусматривается не один, а несколько действующих механизмов, которые будут стимулировать работу врачей. К этому вопросу мы подходим дифференцированно.

Во-первых, это тридцатипроцентная надбавка, в

первую очередь предназначенная участковым терапевтам, педиатрам в связи с тем, что к ним будет записываться больше граждан и им придется выполнять больший объем работ.

Во-вторых, мы предполагаем и рекомендуем органам здравоохранения, чтобы такие терапевты и педиатры проходили квалифицированную аттестацию, а аттестационная категория сама по себе дает дополнительную плату. И, кроме того, в качестве поощрения будут практиковаться премиальные.

К сожалению, фонды заработной платы, которыми пока располагали наши учреждения, не позволяли всем этим механизмам полностью заработать. В 1989 г. фонд заработной платы учреждениям здравоохранения впервые запланирован в полном объеме, т. е. будет соответствовать штатному расписанию больниц и поликлиник. Конечно, это позволит не только материально стимулировать квалифицированных врачей, медицинских сестер, младшего медицинского персонала, но и открывает дорогу реальному использованию бригадного под-
ряда.

— Алексей Михайлович, известно, что планируется увеличение нормы расходов на питание и медикаменты. Названы конкретные цифры: для стационаров дополнительные ассигнования возрастут в 1,8—2,2 раза, в поликлиниках — в 2—3 раза. Когда это будет реализовано на практике?

— Предусматривается увеличение норм расходов на питание, на лекарственное обеспечение, новые повышенные нормативы на белье, мягкий инвентарь в стационарах; будет больше выделяться ассигнований на приобретение медицинской техники, а также лекарств.

Осуществлено увеличение норм расходов на лекарственное обеспечение, приобретение медицинской техники. Повышение норм на питание вводится с 1 января 1989 г. Однако это только первые шаги. Уже предусмотрено следующее увеличение норм расходов денежных средств в 1991—1992 годах. Лучшее это показать на конкретных примерах. До этого года на лекарства для больных в онкологических стационарах действовала норма 2 руб. на пациента в день. Сейчас — 2 руб. 50 коп., а с 1 января 1991 г. — 5 руб. В отделениях для лечения гнойных хирургических инфекций, соответственно, 1,4 и 7 руб на больного.

— Практика показывает, что очень многим больным трудно адаптироваться в условиях больницы. Хотелось бы услышать ваше мнение о целесообразности дневных стационаров.

— Я вижу здесь перспективное решение целого ряда проблем, поскольку не все больные обязательно должны находиться в больнице ночью. Они могут пройти в дневное время полноценный курс лечения, а затем в зависимости от состояния и медицинских показаний мы можем отпустить их домой, чтобы вечер и ночь они провели в семье, в привычной для них обстановке.

Важно, что часть медицинского персонала больницы (особенно среднего и младшего) сможет теперь заниматься уходом за более тяжелыми больными. А уход — как вы знаете — это одна из болевых точек здравоохранения. Уже в настоящее время на Украине действует свыше 300, в Казахстане около 200 дневных стационаров. Эта форма получает высокую оценку больных.

— А не окажутся ли пациенты дневных стационаров в более привилегированном положении по сравнению с теми, кто находится в лечебном учреждении постоянно? Какие шаги предпринимаются, чтобы скрасить пребывание этих людей в больничных стенах и приблизить обстановку к привычной, сделать ее домашней, уютной?

— Это очень серьезная проблема. Для решения ее сделаны только первые шаги. Принято решение, чтобы во всех больницах, во всех крупных да и средних поликлиниках были организованы комплексы «буфет — столовая», где больные могли бы покупать необходимые для себя продукты. С другой стороны, необходимо организовать нормальное питание медицинского персонала, который не имеет зачастую возможности выйти из здания, где приходится работать по 12, а то и по 24 часа. Для реализации задуманного необходимо выделить помещения, оснастить их соответствующим оборудованием, создать соответствующий дизайн буфетов и столовых, чтобы там действительно приятно было посидеть, покушать — снять, так сказать, больничный настрой.

Хочу подчеркнуть: там, где главные врачи, где руководители органов здравоохранения в свое время думали об этом, такой проблемы давно уже нет.

— Алексей Михайлович, предусмотрено увеличить

производство современных медикаментов, имея в виду полное удовлетворение в потребности лекарственных препаратов. Что это означает?

— С учетом закупок по импорту в настоящее время потребность в лекарственных средствах удовлетворяется примерно процентов на 80. Что же касается полного удовлетворения в отечественных препаратах, то это планируется обеспечить к 1993 г. предприятиями Министерства медицинской и микробиологической промышленности, Госагропромом и рядом других министерств и ведомств, поставляющих в учреждения здравоохранения лекарственные средства и перевязочные материалы.

Важно не только полное удовлетворение потребностей в медицинских препаратах, но и обеспечение всей гаммы необходимых лекарственных средств, по своим качественным параметрам отвечающих самому современному уровню. Не только по объему, но и по качеству лекарств мы должны быть на уровне современных мировых стандартов. Задача очень сложная, но в стране есть условия для ее решения.

— Несколько слов о ценах на лекарства. Очень много нареканий со стороны населения, что медикаменты за последние годы значительно подорожали. Какие тенденции здесь намечаются?

— Подорожали не те медикаменты, которые стоили дешево! Препараты, которые всегда имели невысокую стоимость, как, допустим, созданные на основе аспирина или на основе пирамидона, многие сердечно-сосудистые средства не подорожали.

Надо иметь в виду, что получение, разработка и производство новых препаратов, особенно наиболее эффективных, современных, сами по себе очень дорого обходятся. И тот разрыв между себестоимостью лекарства и той ценой, по которой они поступают в аптечную сеть, является для большинства населения очень небольшим. Только за последние десять — двенадцать лет дважды проводилось снижение цен на лекарственные средства, и в первую очередь на препараты именно дорогостоящие. Цены на существующие лекарственные препараты повышаться, естественно, не будут. Более того, розничные цены ряда лекарств в аптеках ниже стоимости, по которой они закупаются за рубежом. Постоянно увеличивается число больных, которым препараты отпускаются бесплатно или по льготной цене. С 1 января 1988 г.

решением правительства введено бесплатное лечение в амбулаторных условиях всех больных бронхиальной астмой, детей до 3 лет (ранее бесплатно лечились дети до года).

— Магистральный путь советского здравоохранения — повышение эффективности профилактики здоровья населения. Это, несомненно, самое гарантированное лекарство.

Любую болезнь легче предупредить, чем лечить ее. Но бывают случаи неотложные. Я говорю о службе скорой помощи, какие здесь намечаются перемены?

— По скорой помощи в следующей пятилетке предполагается создать мощные объединения, которые бы включали в свой состав больницу «Скорой помощи» и подстанции. Вопрос о совершенствовании службы скорой медицинской помощи, улучшении ее организационной структуры, оснащенности остро ставился в выступлениях ряда делегатов съезда врачей. И в этой области здравоохранения проблем пока очень много. Необходимо постепенно довести уровень работы лечебных бригад до эффективности деятельности бригад интенсивной терапии. Больше внимания требует эта служба на селе, где в ближайшее время предстоит значительно увеличить количество круглосуточных бригад, развернув их при участковых больницах, амбулаториях, особенно в районах с неудовлетворительными транспортными коммуникациями. Важно, конечно, добиться и рационального соотношения между количеством линейных, интенсивной терапии и специализированных служб.

— Очевидно, это потребует увеличения парка автомобилей, оснащенных специальной техникой?

— Конечно. Мы с нетерпением ожидаем от Минавтопрома новых передвижных, повышенной проходимости средств для оказания неотложной помощи, шедшей при перевозке тяжелобольных, как в условиях города, так и сельской местности.

— Алексей Михайлович, наверное, в каждой экстремальной ситуации полагаться на технику было бы опрометчивым. Мне кажется, было бы уместным в конце нашего разговора вновь вернуться к вопросу подготовки и воспитания медицинских кадров, организации их работы, а также повышения уровня их квалификации, компетентности и профессионализма...

— Это основа основ. Хотя на сегодняшний день

здесь все обстоит не так благополучно, как бы хотелось. Что я хочу этим сказать? По числу врачей мы далеко обогнали все страны. Однако в ряде районов (особенно в сельской местности) отмечается острая нехватка медицинских кадров. Или вот такой возникает парадокс. В Грузии, а особенно в Тбилиси, медиков больше, чем нужно. И в то же время мы остро ощущаем недостаток врачей, особенно педиатров, в республиках Средней Азии, где очень высокая рождаемость и где в структуре населения большое место занимают дети.

Вторая проблема, которая здесь возникает, — качество подготовки врача, медицинской сестры. Я вот так прямо говорю — качество, хотя, может быть, это не совсем красивое выражение относительно к медику. В этом отношении будет проводиться очень жесткая политика по подготовке врача в вузе. Уже сегодня пересмотрена программа подготовки врачей, согласно которой студентов из медицинских учреждений будет отселять значительно больше, чем прежде. Взят курс на прием в вузы преимущественно ориентированной молодежи — юношей и девушек, которые проработали до этого в качестве санитаров не менее двух лет.

В программах делается уклон на практическую подготовку. У нас в медицинских вузах сложилась такая ситуация: на первых курсах студентам живется очень тяжело. Они тщательно изучают биологическую химию, патофизиологию, топографическую анатомию и т. д. Но по мере того как студенты переходят к клиническим кафедрам, напряженность, откровенно говоря, снижается. Сейчас берется другой крен и в учебном процессе. Не снижая напряженности первых лет общетеоретической подготовки, все-таки резко повысить интенсивность учебного процесса на старших курсах.

Следующий этап в решении поставленных задач — система дальнейшего повышения квалификации после дипломной подготовки врачей. У нас в стране достаточное количество институтов для усовершенствования врачей, а также факультетов повышения квалификации. Здесь необходимо больше уделять внимания более дифференцированной подготовке и практической работе специалистов. Потому что очень часто, приезжая в наши институты повышения квалификации, врачи слушают практически те же лекции, которые слушали в учебном вузе. При этом они мало работают практиче-

ски. Отсюда — и отдачи от такого «усовершенствования» почти никакой.

Проблем, стоящих перед нашим здравоохранением, — великое множество. Но если мы будем смотреть правде в глаза, если не будем жалеть средств и усилий для укрепления нашей службы здоровья, дело с мертвой точки сдвинется, и мы начнем создавать службу здоровья, достойную нашего народа.

* * *

Сахарный диабет — драма, болезнь, приносящая раннюю инвалидность. Гиподинамия, неправильное питание, лишние углеводы, экологическое неблагополучие, наследственность дают стабильный рост заболеваемости этим недугом во всех экономически развитых странах мира. Правительства принимают национальные программы по борьбе с ним. А как обстоит дело у нас? Об этом рассказывают председатель Всероссийского научного общества эндокринологов, лауреат Государственной премии СССР Е. МАРОВА и главный эндокринолог Минздрава СССР, профессор И. ДЕДОВ.

НУЖНЫ СРОЧНЫЕ МЕРЫ

Рост заболеваемости сахарным диабетом у нас в стране столь же угрожающий, как и во всем мире. В Российской Федерации за десять лет число больных увеличилось вдвое. А вот организация борьбы с недугом отстает непозволительно. Один лишь штрих: если вы захотите исследовать вашего ребенка на сахар, то в иных городах придется отстоять очередь две недели и больше. Хотя по сегодняшним возможностям мировой медицины очередь исключена — процедура занимает минуты. Мы даже не располагаем точной статистикой, сколько у нас больных и каких именно. Поэтому СССР оказался в числе стран, которые Всемирная организация здравоохранения не учитывает, организуя борьбу с сахарным диабетом. Мы вынуждены констатировать: советская медицина долгие годы необоснованно принижала значение эндокринологии, и мы сильно отстали.

В самом деле, разве допустимо, что мы можем госпитализировать лишь каждого пятого больного сахарным диабетом. Диабетология — та исключительная

область нашей медицины, которая не имеет стационаров по осложнениям.

Критическим надо признать положение с лабораторной техникой. Уровень сахара в крови в поликлиниках определяется допотопной технологией, которая требует полутора часов. Надо ли говорить, что это недопустимо в реанимационных отделениях, однако и там нет возможности проводить экспресс-анализы.

На Западе фирмы состязаются в создании предельно удобного карманного препарата, можно перечислить десятки модификаций — компактных, надежных, со встроенной электроникой. В комплекте со специальным шприцем такой аппарат делает человека свободным от жесткой привязанности к поликлинике и к дому. У нас ничего этого нет. Достижением считаем, что с этого года будет в достатке закупаться импортные одноразовые шприцы — пока лишь только для детей, больных сахарным диабетом. Лекарства для диабетиков в таблетках берем за рубежом. Инсулин, правда, производим.

— Не так давно прошел слух, что поставки инсулина больным вот-вот прекратятся. Скажите, имели ли основания эти страшные для многих людей прогнозы?

— Увы, кризис был. А произошло вот что. Инсулин — это, как известно, гормон поджелудочной железы. С недостатком инсулина в организме и связано заболевание сахарным диабетом. Инсулин же как лекарство получают из поджелудочных желез свиней и крупного рогатого скота. Производит это лекарство Минмедбиопром, но такого качества, что наши врачи подчас не рекомендуют больным применять отечественный препарат. По этой причине в декабре 1987 г. Минздрав СССР запретил производство четырех видов инсулина. Тогда-то и возникла серьезная угроза перебоев в поставках. Но поскольку это был вопрос жизни тысяч и тысяч людей, были сделаны закупки за рубежом.

Так кризис был снят, однако Минмедбиопром не улучшил качество продукции и по сей день. Инсулин не соответствует не только международным требованиям, но подчас даже нашему ГОСТу. А между тем «грязные» инсулины с белками-балластами вызывают аллергию, сыпь, отеки. Увы, у нас нет возможности обеспечить всех больных импортным инсулином, в первую очередь он направляется детям. Поэтому вынужденно выписываем больным то лекарство, какое имеем.

Назрела самая неотложная государственная необходимость организовать отечественное производство качественных препаратов для больных сахарным диабетом. Причем оно должно идти не вдогонку за западным опытом, а сразу начинаться с передового слова — с изготовления человеческого полусинтетического инсулина, полученного с помощью генной инженерии.

— Вы перечисляете провал за провалом. Думаю, вряд ли мы сможем их объяснить ссылками на эпоху стояния. А где были специалисты, отраслевая наука, давала ли она своевременный прогноз?

— Прогноз, действительно, — дело науки, но ведь и ее самой как таковой не было. Единственный институт, где занимаются проблемами диабета, — это НИИ экспериментальной эндокринологии и химии гормонов АМН СССР, насчитывающий очень небольшое число научных сотрудников. Из них непосредственно сахарным диабетом занимаются буквально несколько человек. У российского здравоохранения нет ни одного института эндокринологии, не говоря уже об институте диабета. Для сопоставления: в ГДР институтов диабета — два.

Коллегия Минздрава СССР, рассмотревшая в июле прошлого года неблагоприятное положение эндокринологической службы, приняла решение о создании Всесоюзного эндокринологического научного центра АМН СССР. В его состав войдет вновь организуемый институт диабета. Запланировано также открытие двух самостоятельных институтов эндокринологии — при Восточно-Сибирском филиале АМН СССР и в Минздраве России. Сейчас ведущим ученым поручено разработать государственную программу «Сахарный диабет».

Что же касается специалистов, то, к сожалению, за последние десятилетия произошел их интенсивный отток. И неудивительно! Можно только удивляться, как до наших дней продержалась инструкция 30-х годов о том, что отпуск у врачей узких специальностей, в том числе и у эндокринологов, должен быть всего 18 дней! Нагрузка же на врача-эндокринолога, наоборот, непропорционально велика: по нормам Минздрава один эндокринолог обслуживает 50 тысяч городского населения, а детский врач-эндокринолог — сто тысяч. Инструкция отменена нынешним летом.

— На коллегии Минздрава СССР слово получила председатель московского общества больных сахар-

ным диабетом Л. Андреевская. Выступление поразило энергией, смелостью, компетентностью. Такое впечатление, что созданием всесоюзного и территориальных обществ больных сахарным диабетом можно сделать прорыв в том кольце упущений, в котором оказалась проблема сахарного диабета.

Московское общество поначалу стало формироваться даже не из больных, а из родителей больных детей. Им приходится очень тяжело: врачей нет, на прием добираться далеко, врач за несколько минут приема не может порой объяснить даже элементарного — как колоть лекарства, какую соблюдать диету, как готовить эту пищу. Дежурных лабораторий для сдачи крови на сахар не существует, даже платных. В общем, семья живет в хроническом состоянии стресса, всегда в ожидании худшего. О специальном питании уже говорилось — оно организовано из рук вон плохо. Нужны детские сады, пионерские лагеря для детей больных сахарным диабетом. При тяжелых формах заболевания ребенок не может ходить в школу, но обучение на дому фактически не налажено. Большинство матерей в этой обстановке бросают работу, устраиваются дворником или диспетчером в жэк, чтобы полностью посвятить себя ребенку. Мать согласна жить и на минимальную зарплату, но тут ее поджидает еще один удар — мало кто заботится о больных сахарным диабетом, но «забьются» спекулянт: месячный комплект ампул чистого инсулина, который во всем мире выдается бесплатно, у спекулянта стоит от 60 до 100 рублей. Экспресс-анализ на импортном глюкометре — 110 рублей!

А выход как раз в организации обществ больных. Возможности их огромны, и это мы знаем по обществу слепых, взявших на себя социальную адаптацию людей, потерявших зрение.

К счастью, в кругах специалистов необходимость создания подобной общественной организации осознана. В частности, сессия АМН СССР, рассмотрев проблемы сахарного диабета, записала себе в решения — организовать Всесоюзное общество больных сахарным диабетом.

Беседу вела Н. ХАРИТОНОВА

ОТВЕЧАЕМ НА ВАШИ ПИСЬМА

Читатели Н. Нефедов (Москва), Л. Коржевский, С. Султанов (Новосибирск) и другие интересуются новыми методами лечения сахарного диабета. Выполняем их просьбу.

ПЕРСПЕКТИВНЫЙ МЕТОД

Немного статистики. В 1980 г. на Земле насчитывалось около 30 миллионов больных диабетом. По заключению экспертов Всемирной организации здравоохранения, их число должно было увеличиться примерно вдвое в течение ближайших 15 лет. В нашей стране, как полагают ученые-практики, занимающиеся лечением диабета, от этого недуга страдают около 7 миллионов человек.

Безусловно, перспективным методом лечения диабета, хотя и связанным с большим риском, является пересадка поджелудочной железы, взятой от донора. Сегодня в мире произведено свыше 900 таких пересадок в США, Швеции, Швейцарии. Делаются подобные операции и в Советском Союзе. Пока широкого распространения они не получили. Прежде всего потому, что слишком велика опасность послеоперационных осложнений — отторжение трансплантата, тромбоз сосудов, инфекции. Со временем, очевидно, многие из этих осложнений научатся преодолевать. Ученые уже и сейчас достигли определенных успехов. Но все же пока максимальный срок работы пересаженной донорской железы не превышает 7 лет, а это, естественно, далеко от желаемых результатов.

Мысль о том, что можно пересаживать не целый орган (поджелудочную железу), а его эндокринную ткань, была высказана замечательным русским ученым Л. В. Соболевым в 1900 г. Однако правильность этого

предположения удалось подтвердить лишь много позднее — в 1977 г., когда трансплантологи из Миннесотского университета (США) пересадили больному диабетом кусочки поджелудочной железы, взятой у донора. И хотя результаты были не слишком удачными, у ученых всего мира все же появилась надежда на успех...

Бета-клетки... Именно они и вырабатывают инсулин, тот самый гормон, который вводят больным, страдающим диабетом.

В отделении клинической трансплантации, в лаборатории культур тканей НИИ трансплантологии и искусственных органов Министерства здравоохранения СССР выращивают эти клетки, а позднее в отделении клинической трансплантации этого института их пересаживают больным, страдающим тяжелыми формами диабета.

Первую пересадку бета-клеток в нашей стране сделал в 1979 г. директор института, член-корреспондент АМН СССР В. И. Шумаков, который и был инициатором этого нового направления исследований института, начавшихся еще в 1975 г. Именно они и показали, что лучше пересаживать не ткань, взятую непосредственно от донора, а ее предварительно культивированные клетки.

Вплотную к диабету наука подступилась более 100 лет назад. Все началось с открытия немецким ученым-гистологом Паулем Лангергансом в поджелудочной железе каких-то «таинственных островков», впоследствии названных его именем. Поздние исследования (в том числе и работы Соболева) установили, что островки Лангерганса отвечают за норму сахара в крови. В 1921 г. канадские ученые Ф. Бантинг и Ч. Бест делили из них инсулин.

Ученые НИИ трансплантологии и искусственных органов разработали оригинальную методику получения клеточных культур из поджелудочной железы человека и животных. Их выращивают в специальной питательной среде. Оказалось, что культивированные клетки могут длительное время жить в организме больных диабетом. Из 220 трансплантаций в 80 случаях пациентам подсадили культивированные клетки из поджелудочной железы поросят, поскольку свиной инсулин по составу очень близок человеческому. Результаты оказались успешными. С течением времени упростился и сам прин-

ций введения клеток в организм человека. Если поначалу требовалось настоящее оперативное вмешательство — островковые клетки вводили через воротную вену, то теперь клиницисты проводят эту операцию с помощью шприца, вводя клеточную взвесь в мышцы живота.

Но остается пока самый главный вопрос: позволяет ли этот метод полностью освободить больных от инсулиновых инъекций? К сожалению, нет. Справедливости ради стоит сказать, что ученые и не ставили перед собой такой задачи. Главное было научиться бороться с поздними осложнениями диабета, суметь сделать течение болезни более благоприятным. Пересадка островных клеток стабилизирует количество сахара в крови, снижает долю инсулина, вводимого в организм, улучшает общее состояние больных, страдающих этим недугом.

Самое тяжелое в диабете — это то, что болезнь поражает молодых, трудоспособных людей, превращая их, по сути дела, в инвалидов. Диабет занимает первое место среди причин, вызывающих слепоту, больные диабетом подвержены атеросклерозу, гипертонии, у них намного чаще развивается инфаркт миокарда, глубокие поражения печени и почек...

Для того чтобы бороться с диабетом, необходимо оперативным путем отвести от печени глюкагон — вещество, которое наряду с инсулином создает нормальный баланс сахара в организме человека.

В организме человека есть гормон, действующий противоположно инсулину, который вызывает в печени усиленную продукцию глюкозы и тем самым увеличивает количество сахара в крови. Таким образом, не только инсулин, но и противоположно действующий гормон глюкагон ответственны за развитие сахарного диабета.

Если отвести глюкагон от печени, соединяя сосуд, идущий от поджелудочной железы, по которому протекает основная масса глюкагона, с сосудом, идущим мимо печени, то глюкагон пойдет в обход печени. Он попадет в нее лишь после того, как соединится на периферии с инсулином (введенным в организм человека инъекцией), причем в более нужной пропорции. Эта операция необходима самым тяжелым больным, у которых инъекции инсулина не снижают уровень сахара в достаточной степени.

И операция не избавляет больных от инсулиновых инъекций, но после нее инсулин вводится уже в значительно меньших дозах. Чем больше времени проходит со дня такой операции, тем заметнее становятся ее результаты.

Получит ли подобный метод лечения широкое распространение или он будет применяться только в случаях тяжелых форм заболевания? Исследования (многoletние эксперименты на животных) пока не дали окончательного ответа.

ЛИТЕРАТУРА

Аллисон А., Грегориадис Г. Липосомы в биологических системах. — М.: Медицина, 1983.

Бергельсон Л. Д. Мембраны, молекулы, клетки. — М.: Наука, 1982.

Торчилин В. П. Липосомы в медицине // Природа. — 1980. — № 2. — С. 26.

Кобринский Г. Д. Липосомы в медицине // Наука и жизнь. — 1988. — № 5. — С. 126—129.

Введение
 Что такое липосомы?
 О липидах
 Переносчики лекарств
 Липосомы и клетки
 Приготовление липосом
 Судьба липосом в организме
 Липосомы в экспериментальной онкологии
 Липосомы в лечении инфекционных заболеваний
 Лечение заболеваний, вызванных простейшими микроорганизмами
 Эксперименты по лечению малярии
 Лечение грибковых заболеваний
 Направленный транспорт липосом
 Взаимодействие с клетками посредством иммуноглобулинов
 Липосомы и иммуномодуляторы
 Введение липосомальных препаратов перорально
 Липосомы — иммунологические адъюванты
 Иммунизация против инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями
 Иммунизация липосомальными препаратами против заболеваний, вызываемых простейшими микроорганизмами
 Создание иммунитета против вирусных заболеваний
 Липосомы и индукторы интерферона
 Ферментотерапия
 Липосомы и гормоны
 Использование липосом в диагностических методах
 Заключение
 Актуальные интервью
 Отвечаем на ваши письма
 Литература

Научно-популярное издание

Кобринский Григорий Дмитриевич

ЛИПОСОМЫ — ТРАНСПОРТЕРЫ ЛЕКАРСТВ

Главный отраслевой редактор А. Нелюбов, Мл. редактор Н. Карякина, Худож. редактор М. Бабичева, Техн. редактор И. Белкина, Корректор Е. Альшевская.

ИБ № 9868

Сдано в набор 22.11.88. Подписано к печати 03.01.89. А 08507. Формат 84×108/32. Бумага тип. № 2. Гарнитура литературная. Печать выс. Усл. печ. л. 3,36. Усл. кр.-отт. 3,68. Уч.-изд. л. 3,43. Тираж 161191 экз. заказ 2300. Цена 15 коп. Издательство «Знание». 101835, ГСП, Москва, Ц. проезд Серова, д. 4. Индекс заказа 896202. Типография Всесоюзного общества «Знание». Москва, Центр, Новая пл. д. 3/4.