

სულიკო კუპრადზე, ილია გველესიანი
პლაფერონ კვ-ს მიღება და შესწავლა

თსსუ-ის ვლ. ბახუტაშვილის სახ. სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი

Doi: <https://doi.org/10.52340/jecm.2023.02.20>

SULIKO KUPRADZE, ILIA GVELESIANI
OBTAINING AND STUDY OF PLAFERON-KK

TSMU, V.Bakhutashvili Institute of Medical Biotechnology

SUMMARY

The article discusses the method of obtaining a new biologically active drug from the amniotic membrane of the placenta. This drug was named Plaferon-KK. The methods of determining its safety are described. Its antioxidant property has also been studied. It was established that Plaferon-KK is a non-toxic, sterile and completely safe drug. In addition, it has a fairly high antioxidant effect (53%). The obtained results allow us to move to the next step - pre-clinical testing.

Keywords: Plaferon-KK, new drug, placenta

პლაფერონ-ლბ-ს მიღების დროს მიზნად იყო დასახული პლაცენტის ანტიოქსიდატური ინტერფერონის სინთეზი, ამიტომ ლეიკოციტარული ინტერფერონის სინთეზის ტექნოლოგია სრულად იყო გამოყენებული. შემდგომში გაირკვა, რომ ფიზიოლოგიური ინტერფერონი პლაფერონის პრეპარატში იმდენად მცირე დოზით იყო წარმოდგენილი, რომ არავითარ რისკს არ თამაშობდა, ამიტომ შემდგომ ნაშრომებში ინტერფერონი აღარც მოიხსენიებოდა. სამაგიეროდ პრეპარატმა გამოამჟღავნა ბევრი თვისება, რომელიც ფართოდ გამოიყენებოდა მედიცინის სხვადასხვა დარგში [1,2,3,4,5].

ჩვენ გვინდა წარმოვადგინოთ პლაცენტის ამნიოტური გარსიდან ახალი პრეპარატის მიღების მეთოდი, რომელიც სრულიად განსხვავდება პლაფერონ-ლბ-ს მიღების მეთოდისგან, მაგრამ თვისობრივად შენარჩუნებული აქვს მისი უნიკალური თვისებები.

პლაფერონ-კვ-ს მიღება. პლაფერონი მზადდება ადამიანის პლაცენტის ამნიოტური გარსიდან. სამშობიარო ბლოკში პლაცენტა თავსდება სტერილურ კონტეინერში, სადაც ასხია ანტიბიოტიკთან შეზავებული ფიზიოლოგიური ხსნარი. კონტეინერი არაუგვიანეს 2 საათისა ხვდება ჩვენთან სტერილურ ბოქსში, სადაც გამოიყოფა ამნიოტური გარსი, რომელიც ირეცხება და იჭრება წვრილ, 3-4 მმ სიდიდის ნაწილაკებად. ამის შემდეგ ამნიოტური გარსის სუსპენზია თავსდება შუშის ბრტყელძირიან კოლბაში, სადაც ჩასხმულია 1ლ ფიზიოლოგიური ხსნარი და შუშაში დამაგრებული მაგნიტი (3სმ სიგრძის). შემდგომში კოლბა თავსდება თერმოსტატში 37 გრადუს ტემპერატურაზე. თერმოსტატში ჩამონტაჟებულია მაგნიტური შემრევი, რომლის მეშვეობით სუსპენზია მუდმივ მოძრაობაშია და პლაცენტის ნაწილაკები არ ენეხებიან ერთმანეთს, რაც იძლევა საშუალებას პლაცენტის უჯრედებში არსებულ ბიოლოგიურად აქტიური ნივთიერებები თავისუფლად გამოვიდნენ ესოვილიდან. ექსტრაქციის პროცესის ხანგრძლივობა 16-18 საათია. ექსპერიმენტულად დამტკიცდა, რომ ცილის ექსტრაგირებას მაქსიმალური რაოდენობით - სჭირდება 16-18 საათი.

პრეპარატის სტანდარტიზაცია ხდება მასში შემავალი ცილების რაოდენობით. აღმოჩნდა, რომ პრეპარატში ცილის რაოდენობა მერყეობს 1.3-1.5 მგ/მლ. აღნიშნული პარამეტრები სრულიად აკმაყოფილებს ფარმკომიტეტის მოთხოვნილებას პრეპარატის სტანდარტის მიმართ.

პლაფერონ-კვ-ს უსაფრთხოების შეფასება. აღნიშნული შეფასება ხდება რამოდენიმე პარამეტრით - უვნებლობა, ტოქსიურობა, სტერილობა, პიროგენობა და ა.შ.

პლაფერონ-კვ-ს ტოქსიურობის შესწავლა.

ავტორების უმეტესობა პრეპარატის ტოქსიურობას სწავლობენ ლაბორატორიულ უჯიშო თავგვებზე. ჩვენი აზრით, ეს მეთოდი ნაკლებად ინფორმატიულია უჯრედულ კულტურებთან შედარებით. უჯრედული კულტურები, გადასათესი ან პირველადი, გაცილებით მეტად

მგრძობიარეა ნებისმიერი ტოქსინის მიმართ და აგრეთვე იძლევა საშუალებას - დადგინდეს საკვლევი პრეპარატის უვნებელი დოზა.

მეთოდის აღწერა. ერთჯერადი ბრტყელძირიანი პლანშეტის ღრმულეებში ითესება უჯრედების სუსპენზია (20000უჯ/მლ), რომელიც 24 საათში ქმნის მონომრეს. პრეპარატის სხვადასხვა განზავება (განუზავებელი, 1/2, 1/4, 1/8 და ა.შ.) ემატება უჯრედის მონომრეს და 24 საათის შემდეგ მონმდება უჯრედების მდგომარეობა. თუ საცდელი პრეპარატი ტოქსიურია, მის პირველ განზავებებში უჯრედები განიცდიან სხვადასხვა დონის დაზიანებას (ციტოპათიური ეფექტი). პლაფერონ-კკ-ს შემთხვევაში ციტოპათიური ეფექტი არ გამოიყვანება არცერთი განზავების შემთხვევაში. აქედან შეიძლება გამოვიტანოთ დასკვნა, რომ განუზავებელი პრეპარატიც არ არის ტოქსიური.

კონტროლისთვის გამოვიყენეთ საცდელი ცხოველები - უჯიშო თეთრი თაგვები 18-20 გრ. 5 ცალი. საცდელი პრეპარატი 0,5 მლ შევუყვანეთ თაგვებს ინტრაპერიტონეალურად. დაკვირვებას ვანარმოებდით 5 დღე-ღამის განმავლობაში. აღნიშნული დროის განმავლობაში ცხოველებს არ ეტყობოდათ დაავადების რაიმე სიმპტომი, საკვებს ღებულობდნენ ნორმალურად, წონის დაკლებას არ ჰქონია ადგილი, ყველა ცხოველი დარჩა ცოცხალი. შედეგი - ორივე მეთოდით დამტკიცდა, რომ პლაფერონ-კკ ატოქსიურია.

კონტროლი სტერილობაზე. (EUROPEAN PHARMACOPEIA, 2008, 2.6.1. Sterility) პლაფერონ-კკ შევისწავლეთ პირველ რიგში ვირუსებზე - შიდსი, ჰეპატიტი A, B, C. აგრეთვე ტუბერკულოზის ჩხირზე, კოკებზე და სოკოებზე. პრეპარატი აღმოჩნდა თავისუფალი ყველა ზემოთხამოთვლილი ვირუსებისგან, მიკრობებისგან და სოკოებისგან. დასკვნა - პლაფერონ-კკ სტერილურია.

კონტროლი უვნებლობაზე, სტაბილობაზე და პიროგენობაზე აღარ ჩატარდა, ვინაიდან გაკეთებულმა კვლევებმა ამომწურავი პასუხები მოგვცეს.

ამრიგად, პლაფერონ-კკ უსაფრთხო და უვნებელი პრეპარატია და შესაძლოა დაშვებულ იქნას შემდეგ ეტაპზე - კლინიკამდე გამოცდაზე. რადგან პლაფერონი-ლბ გამოირჩევიდა მაღალი ანტიოქსიდანტური თვისებით, ჩვენ გადავწყვიტეთ ახალი პრეპარატიც შეგვემონებინა ამ თვისებაზე.

მეთოდის აღწერა. მეთოდი ეფუძნება ანტიოქსიდანტის ურთიერთქმედებას თავისუფალ რადიკალთან - 1,1-დიფენილ-2-პიკრილჰიდრაზილის (1,1-Diphenil - 2-picrylhydrazil-DPPH). აღნიშნული ინჰიბიტორული მოქმედების პრინციპი შემდგომში მდგომარეობს:

ანტიოქსიდანტი ახდენს DPPH-ის რადიკალების შეზღვევას, იმის მიხედვით, რა რაოდენობით თავისუფალი რადიკალი განეიტრალდა, ისაზღვრება საკვლევი ობიექტის ანტიოქსიდანტური აქტივობა. ეს მეთოდი გამოიყენება სხვადასხვა ნაერთების თავისუფალი რადიკალების შეზღვევის უნარიანობის დასადგენად.

DPPH-ის ხსნარის მომზადება: 3,9გ DPPH-ის რეაქტივი იხსნება 96% 100მლ ეთილის სპირტში.

საკვლევი ხსნარის მომზადება: პლაფერონი-კკ 0,5; 1,0; 1,5; 2,0მლ რაოდენობით თავსდება სინჯარებში, სადაც ემატება 4,5; 4,0; 3,5 და 3,0 მლ DPPH-ის ხსნარი, ყოვნდება სინათლისგან დაცულ ადგილზე 30 წუთის განმავლობაში, რის შემდეგ ხდება ყოველი ნიმუშის ოპტიკური სიმკვრივის სპექტროფოტომეტრირება 517 ნმ-ზე. იგივე ტალღაზე იზომება საკონტროლო ნიმუშიც (ეთილის სპირტი). მიღებული შედეგი:

1. 0,5 მლ პლაფერონ-კკ-ს ოპტიკური სიმკვრივე 0,96
2. 1,0 მლ პლაფერონ-კკ-ს ოპტიკური სიმკვრივე 0,84
3. 1,5 მლ პლაფერონ-კკ-ს ოპტიკური სიმკვრივე 0,66
4. 2,0 მლ პლაფერონ-კკ-ს ოპტიკური სიმკვრივე 0,48
5. სტანდარტული ხსნარი 9 კონტროლი 1,02

თავისუფალი რადიკალის აქტივობის ინჰიბირება გამოითვლება შემდეგი ფორმულით:

$$\text{In}\% = (\text{Ac} - \text{As}) / \text{Ac} * 100$$
, სადაც Ac - DPPH-ის სპირტიანი ხსნარის აბსორბცია, ხოლო As - საანალიზო ნიმუშის აბსორბცია. ფორმულის თანახმად:

საანალიზო ნიმუშის $In\%=(1,02-0,48)/1,02*100\%=0,53\%$

ამრიგად, პლაფერონ-კვ-ს ანტიოქსიდანტური აქტივობა უდრის 0,53%, რაც საკმაოდ მაღალი მაჩვენებელია.

დასკვნა. ჩვენს მიერ იყო მიღებული ახალი ბიოლოგიურად აქტიური პრეპარატი, რომლის სტანდარტს წარმოადგენს ცილის რაოდენობა (1,3-1,5მგ/მლ), რაც საკმაოდ მაღალი სტანდარტია. პრეპარატს დაერქვა სახელი პლაფერონი-კვ. მისი უსაფრთხოების შესწავლისას დადგინდა, რომ ის სრულიად ატოქსიურია, სტერილურია და ყოველნაირად აკმაყოფილებს ევროპული ფარმაცოპეის მოთხოვნებს სამკურნალო პრეპარატების მიმართ. ამის გარდა შესწავლილი იქნა პრეპარატის ანტიოქსიდანტური თვისება, რამაც მოგვცა საკმაოდ კარგი შედეგი, რაც გვაძლევს საშუალებას გადავიდეთ შემდეგ საფეხურზე - კლინიკამდე გამოცდაზე.

გვინდა მადლობა გადავუხადოთ პროფესორ შოთა ცანავას, უჭრედული კულტურების და ცხოველების მომარაგებისთვის. პროფესორ ევა კვარაცხელიას, პრეპარატში ცილის გაზომვისთვის. განსაკუთრებული მადლობა პროფესორ ალექო ბაკურიძეს, პლაფერონის ანტიოქსიდანტური თვისებების შესწავლისთვის.

გამოყენებული იტერატურა:

1. S.Kupradze, B.Korsantia, Effect of Plaferon on mixt infection/ Intern.J.Immuno Rehabilitation,1998,#5,161.
2. Korsantia N., Mamaladze M., Korsantia B., Bakhutashvili V.- Clinical and immunological aspects of treatment of chronic periodontitis with soluble plaferon-containing medicinal films// Ann. Biomed. Res. Educ. 2001; 1(3):174-175.
3. С.Купрадзе, Р.Микеладзе, Б.Корсантия. Механизм лечебного действия плаферона ЛБ и феновина при вирусной инфекции лейкоза Раушера. Georgian Medical News, 2005,7-8: 68-70.
4. ს.კუპრაძე, ჯ.მკერვალიშვილი და სხვ. პლაფერონ ლბ-ს ზემოქმედება ადამიანის ტრანსფორმირებულ უჭრედების აპოპტოზზე და მორფოლოგიაზე. ექსპერიმენტული და კლინიკური მედიცინა, 2009;10:72-74.
5. ს.კუპრაძე, ნ.ლობჯანიძე და სხვ. პლაფერონისა და ბუნებრივი ცელოლიტის ზემოქმედების შესწავლა ხოჯკინის დაავადების მიმდინარეობაზე. ექსპერიმენტული და კლინიკური მედიცინა, 2014;1:49-52.

სულიკო კუპრაძე, ილია გველეხიანი

პლაფერონ კვ-ს მიღება და შესწავლა

თსუ-ის ვლ.ბახუტაშვილის სახ.სამედიცინო ბიოტექნოლოგიის ინსტიტუტი

რეზიუმე

სტატიაში განხილულია პლაცენტის ამნიოტური გარსიდან ახალი ბიოლოგიურად აქტიური პრეპარატის მიღების მეთოდი. ამ პრეპარატს დაერქვა სახელი პლაფერონი-კვ. აღწერილია მისი უსაფრთხოების დადგენის მეთოდები. აგრეთვე შესწავლილია მისი ანტიოქსიდანტური თვისება. დადგინდა, პლაფერონი-კვ არის ატოქსიური, სტერილური და ყოველნაირად უსაფრთხო პრეპარატი. ამის გარდა გააჩნია საკმაოდ მაღალი ანტიოქსიდანტური ეფექტი (53%). მიღებული შედეგები გვაძლევს საშუალებას გადავიდეთ შემდეგ საფეხურზე - კლინიკამდე გამოცდაზე.

