СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 3

ГЛАВА 1Литературный обзор 5

ГЛАВА 2 Химические свойства сквалена 16

2.1.Сквален как природный ациклический терпен 16

2.2.Получение сквалена с растительного сырья 18

2.3.Животное сырье для получения сквалена 24

### ГЛАВА 3 Использование сквалена в фармакологии

### и косметической индустрии 43

### 3.1.Сквален в липидах поверхности кожи при себорейном

### и атопическом дерматитах 43

3.2.Использование сквалена в косметической отрасли 46

Заключение 49

Список литературы 51

ВВЕДЕНИЕ

Одним из путей решения проблемы здоровья и питания населения является производство и широкое использование качественных и безопасных растительных масел с гарантированным содержанием полиненасыщенных жирных кислот, витаминов, фитостеринов и других жизненно-необходимых для организма человека биологически активных соединений [1, 2] .

Преимущество использования растительного масла для коррекции недостатка физиологично- функциональных ингредиентов перед лекарственными препаратами, которые содержат, заключается в том, что растительное масло является традиционным пищевым продуктом, который не дает осложнений и побочных реакций в организме.

Пищевая ценность и биологические свойства растительных масел не ограничиваются только жирнокислотным составом. Большое значение имеет содержание в масле сопутствующих веществ, среди которых особая роль принадлежит антиоксидантам - токоферол, каротиноиды и фитостерины.Перспективными источниками нетрадиционного сырья в этом отношении семян льна, рыжий, конопли, грецкие орехи, зародыши пшеницы и амарант [2 - 4].

Амарант (от греч. - Вечный, не в "янучий) - обращает на себя внимание сформировалосьдостаточно икив и практиков сельского хозяйства и пищевой промышленности богатством и сбалансированностью белка, высокой урожайностью, повышенным содержанием витаминов и минеральных солей. Семена амаранта содержит в среднем 15 - 17% белка, 5 - 8% масла и 3,7 - 5,7% клетчатки, больше, чем в большинстве зерновых культур [5, 6]. Физико-химический состав семян амаранта, как и других масличных культур, зависит от видовой принадлежности, цветности семян, климатических условий выращивания. Содержание масла в светлом семенах составляет 7,53 - 9,71%, а в темном - 5,81 - 6,81% [7]. Несмотря на низкое содержание масла, семян амаранта является источником для производства красного масла. Уникальность масла амаранта определяют две его составляющие. Первая - витамин Е в довольно жидкой форме токотриену, особенно активной (благодаря чему он считается мощным антиоксидантом), а вторая - это сквален.

ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Изобретение относится к области медицины, в частности к онкологической фармакологии. Сущность изобретения заключается в том, что разработан новый препарат на основе нативного сквалена, полученного из жира глубоководной акулы или оливкового масла. Нативный сквален активируют с получением активных производных, обладающих противоопухолевым действием. Активацию проводят с помощью нагревания, УФ- или ИК-облучения воздействием активной формы кислорода. Техническим результатом данного изобретения является создание нового противоопухолевого препарата на основе активированного сквалена, не оказывающего цитостатического действия на здоровые клетки. Изобретение относится к области медицины, а именно к клинической фармакологии, в частности к созданию нового препарата для лечения онкологических заболеваний на основе активированного сквалена и способу его получения.

Заболеваемость злокачественными опухолями за последние годы возросла в России более чем на 10%. Ежегодно регистрируются около 500 тыс. вновь заболевших. По уровню смертности онкологические заболевания уступают только сердечно-сосудистой патологии. Технической задачей данного изобретения является увеличение длительности ремиссии, снижение побочных осложнений и расширение ассортимента противоопухолевых средств.

Фармакотерапия опухолевой патологии, наряду с лучевой терапией и хирургией, является наиболее важной составляющей борьбы с онкологическими заболеваниями. За последние годы она обогатилась многочисленными новыми препаратами, повысившими ее эффективность. Однако одним из лимитирующих моментов в лекарственном лечении злокачественных новообразований является привыкание опухолевых клеток к препаратам.

Все противоопухолевые (или противобластомные) препараты разделяют на ряд групп, исходя из их химической структуры, механизма действия, источников получения: алкилирующие вещества, антиметаболиты, антибиотики, агонисты и антагонисты гормонов, алкалоиды и другие средства растительного происхождения.

Сравнительно недавно большое внимание стали привлекать эндогенные противоопухолевые соединения. Обнаружена эффективность интерферонов при некоторых видах опухолей, изучается противоопухолевая активность других лимфокинов.

Наряду со специфическим тормозящим влиянием на опухоли, современные противоопухолевые средства действуют на другие ткани и системы организма, что, с одной стороны, обусловливает их нежелательные побочные эффекты, а с другой - позволяет использовать их в других областях медицины. Кроме того, существенным недостатком современных препаратов является малая избирательность действия в отношении опухолевых клеток.

Одним из основных побочных эффектов противоопухолевой химиотерапии является угнетение кроветворения, что требует точного регулирования доз и режима применения препаратов; необходимо учитывать, что депрессия гемопоэза усиливается при комбинированной терапии - сочетании препаратов с лучевой терапией и др. Часто наблюдаются тошнота, рвота, потеря аппетита, диарея, возможны аллопеция и другие побочные явления. Некоторые противоопухолевые антибиотики обладают кардио- (доксорубицин и др.), нефро- и ототоксичностью. При применении отдельных препаратов возможно развитие гиперурикемии. Эстрогены, андрогены, их аналоги и антагонисты могут вызывать гормональные расстройства.

Одной из характерных особенностей многих противоопухолевых препаратов является их иммуносупрессивное действие, которое может ослабить защитные силы организма, облегчить развитие инфекционных осложнений. В то же время ряд противоопухолевых средств (метотрексат, азатиоприн, циклофосфан, цитарабин, проспидин и др.) используется как иммунодепрессанты при аутоиммунных заболеваниях.

Общими противопоказаниями к применению противоопухолевых препаратов являются выраженная лейко- и тромбоцитопения, тяжелая кахексия, выраженное нарушение функции печени и почек, терминальные стадии заболевания. Вопрос об их использовании при беременности решается индивидуально. Обычно, в связи с опасностью тератогенного действия, эти препараты при беременности не назначают, как и при кормлении грудью (следует прекратить грудное вскармливание).

Применяют противоопухолевые средства только по назначению врача-онколога. В зависимости от особенностей заболевания и его течения, эффективности и переносимости химиотерапии может меняться схема назначения, дозы, вводиться сочетание с другими препаратами и т.д.

В последнее время разработаны лекарственные методы повышения эффективности и переносимости противоопухолевых препаратов. Так, кальция фолинат позволяет оптимизировать действие метотрексата и некоторых других антиметаболитов (в частности, фторурацила), новые высокоэффективные противорвотные средства (блокаторы серотониновых 5-НТ3-рецепторов: ондансетрон, тропистерон и др.) - уменьшить тошноту и рвоту, "колониестимулирующие факторы" (филграстим, молграмостим и др.) - снизить риск нейтропении.

Для лечения онкологических заболеваний достаточно широко используются лекарственные средства растительного происхождения. Основными препаратами этой группы являются винбластин и винкристин - алкалоиды, выделенные из растения Vinca rosea, колхамин и колхицин - из клубнелуковиц Colchicum Speciosum, подофиллин - из корневищ с корнями Podophyllum peltatum. Действие этих алкалоидов обусловлено способностью связываться с молекулами тубулина, тормозить образование митозного веретена и блокировать митоз, т.е. останавливать митотическое деление клеток на стадии метафазы [1].

Противоопухолевая фармакология и молекулярная фармакотерапия рака постоянно развивается и достижения последних лет явно говорят об этом. В частности, исследователи из Германии (Reszka R. и др.) разработали антиопухолевое средство, представляющее собой цитостатик в липосомальной форме, дополнительно содержащий контрастирующий агент, выбранный из группы: йод, гадолиний или магнетит (пат. US 6207133 от 27.03.2001). Весьма эффективными in vivo считаются и так называемые "heat shock protein (hsp)", в частности, такие протеины, как hsp60, hsp90, эффективны в дозах 10-1000 мкг. При этом необходимо учитывать их индивидуальную гистосовместимость с конкретным организмом (пат. US 6136315, 24.10.2000).

Применение названных средств в силу их свойств: цитотоксичность для нормальных клеток, проблема отторжения чужеродных белков оказывается достаточно сложным при их практическом клиническом использовании.

Технической задачей настоящего изобретения является создание противоопухолевого препарата на основе природного, физиологически приемлемого агента, способного при доступной обработке, служить достаточно эффективным средством при различных формах опухолей. Основой для создания такого вещества послужил жир глубоководных акул, известный с древних времен.

Рыбаки древней Японии назвали его "Same dawa" или "панацея". У акул, которых они ловили на дне залива, глубиной 1000 метров, было восхитительное мясо. Они особенно ценили их жир, который употребляли регулярно для улучшения самочувствия. В 1758 году знаменитый ботаник и зоолог Карл Линней объявил о большой ценности для здоровья и о медицинском значении экстракта жира глубоководной акулы. На средиземноморских островах "чудо-масло" столетиями было средством от различных болезней, а также как источник силы и энергии. В скандинавских странах традиционно использовался жир акулы рыбаками для заживления ран, лечения респираторных заболеваний и воспалений прямой кишки. В Китае экстракт жира глубоководной акулы был описан в древней фармацевтической книге "Хонэукомуко". В Испании древние моряки регулярно принимали "асе ite de bacalao" или "жир великой рыбы" в целях сопротивляемости простудам и другим болезням.

В 1906 году доктор Митпумаро Тцуйимото сделал глубокое исследование жира акулы и открыл, что в этом жире содержится очень большое количество ненасыщенных углеводородов. Позже он назвал их "Squalene" - сквален.

Исследование сквалена в последнее десятилетие показало, что этот весьма биологически активный агент обладает целым рядом полезных для млекопитающих терапевтических и косметических свойств, но в то же время его использование для человека должно быть весьма осторожным, поскольку непосредственно сам сквален может при некоторых условиях оказывать и неблагоприятное воздействие. Далее мы приводим конкретные примеры исследований, подтверждающих и те, и другие свойства сквалена.

Сквален является противовирусным соединением для лечения носителей вируса гепатита С, он улучшает in vitro репликацию вируса гепатита С (пат. US 5858389, 12.01.1999).

Получены данные о возможности применения сквалена как антимутагена. Сквален в концентрации 80 микромоль почти полностью подавляет кластогенный эффект арсенита натрия.

Ряд исследований посвящен использованию сквалена для снижения уровня холестерина в крови [3, 4], а также пат. ЕР 0521103, 1994.

Сквален обладает репеллентными свойствами [5].

Сквален широко используется как адъювант при вакцинациях (пат. US 5109026, 1992; US 5733555, 1998; ЕР 0745388, 1996).

Подробно изучены косметические и дерматотерапевтические свойства сквалена и сквалана (пат. US 5079003, 1992). В частности, сквален влияет на прохождение через кожу пироксикама [6].

Очень важным для нашего исследования является тот факт, что высокое содержание сквалена в природном оливковом масле является серьезным фактором снижения риска (т.е. профилактики) заболевания раком [7].

Большинство описанных исследований проведено in vitro или на животных, поскольку сквален, как было указано выше, помимо полезных свойств имеет и неблагоприятное воздействие на организм человека.

В частности, данные компьютерной томографии показали, что у больных подтвержденная экзогенная липоидная пневмония вызвана вдыханием сквалена (продукта переработки жира акульей печени) [8, 9].

Некоторые эксперименты показывают, что сквален ингибирует индукцию нервной передачи [10] и вызывает энцефалопатию у крыс [11].

Противоречивость воздействия сквалена на организм человека особенно отчетливо прослеживается на примере изучения так называемого GWS (Gulf War Syndrome) [12].

Во время войны в заливе (Ирак, 1991 год) у военнослужащих США были обнаружены симптомы неизвестного заболевания: расстройство памяти, заболевания щитовидной железы, аллергия, слабость, сыпь, непроходящие боли. Предполагается, что болезнь вызвана вакцинами, содержащими сквален. Была исследована кровь четырехсот ветеранов войны в заливе на наличие антител, обусловленных скваленом. У 95% пострадавших от синдрома GWS зарегистрирован высокий уровень антител, обусловленных повышенным его содержанием. В крови ветеранов, не испытавших синдрома, такие антитела не обнаружены.

Вакцинация может быть причиной синдрома еще и потому, что военнослужащим систематически делали прививки против чумы и сибирской язвы, страхуясь от иракского биологического оружия. Прививки не делали только французским военнослужащим, только у французских ветеранов синдром GWS не обнаружен. Исследователи из Великобритании (King's College Hospital, London) отмечают, что вышеуказанные прививки могут быть причиной синдрома GWS у британских ветеранов.

Приведенные примеры ясно показывают, что непосредственное применение сквалена для человека необходимо проводить с большой осторожностью, следует искать пути для безопасного применения этого природного тритерпена.

Иную картину мы видим для производных сквалена, например высокоочищенный сквалан успешно применяется в качестве компонента адъювантных композиций (пат. US 6165481, 26.12.2000). 2,3-Оксидосквален высокоэффективен для снижения уровня холестерина в крови [13].

В качестве антираковых агентов в последнее время разработаны такие производные сквалена, как скваламины в составе с другими противоопухолевыми агентами, включая лучевую терапию (см. WO 97/40835, 06.11.1997).

Подробно применение скваламина в сочетании с другими антираковыми агентами описано для лечения карциномы в патенте США 6147060 (14.11.2000).

В Японии также были сделаны попытки использования производных сквалена как антиракового средства (опубл. заявка JP 56113794, 1981). Использовали скваленовый эфир тимидинфеноксиацетата. Производное сквалена применяли как пролонгатор цитостатика для лечения карциномы. Дальнейшие разработки в Японии скваленпроизводных, пригодных как антираковые средства (заявка JP 56046808, 1988; пат. JP 4041424, 1992), были эффективны только в сочетании с другими антираковыми препаратами, cis-платином (заявка JP 61-148118, 1986), 5-фторурацилом (заявка JP 60-2555720, 1985) и др.

В качестве наиболее близких аналогов выбраны: для препарата "Химиопрофилактическое действие сквалена на рак толстой кишки" [14], а для способа: "Озонирование терпенов и их медицинское использование" (пат. US 5190979, 2.03.1993). В последнем описано, что воздействие озона на сквален приводит к появлению у последнего таких полезных свойств, как антибактериальная, фунгицидная и другие полезные активности, он может быть использован при солнечных и др. тепловых ожогах.

Необходимо отметить, что использованная информация убедила нас в том, что природный сквален, содержащийся в жире печени акулы и растительных маслах (например, оливковом, соевом и др. ), требует специальной обработки (активации), для того чтобы достичь желаемого эффекта: излечивания от опухоли и сведения к минимуму побочных явлений, с которыми обычно сталкиваются при лечении опухолей и особенно лейкозов, сарком и метастатических форм.

Поставленная задача решается тем, что создан противоопухолевый препарат на основе природного сквалена, при этом его активируют для приобретения полезных свойств термообработкой или воздействием ультрафиолетового (УФ) излучения, инфракрасного (ИК) излучения или воздействием активной формой кислорода. В результате активации получают активированный сквален (АС), представляющий собой маслянистую жидкость, имеющую следующие физико-химические свойства в сравнении с нативным скваленом (см. табл. А).

Другим аспектом изобретения является способ получения активированного сквалена, который состоит в том, что на природный сквален (полученный из жира печени акулы, или из растительного масла) воздействуют следующим образом: A) Тепловой обработкой: нагреванием при t от 30oС до 200oС, оптимальный режим около 90oС в течение 1-6 часов.

Б) Воздействием УФ-излучением в течение 1-12 часов, оптимально при длине волны 250-350 нм в течение 3-6 часов.

B) воздействием ИК-излучением в течение 3-12 часов, оптимально при длине волны 400-800 нм в течение 6-9 часов Г) воздействием активной формой кислорода, выбранной из группы: озон, перекись водорода, пропускание молекулярного кислорода. Обработку активной формой кислорода проводят от 3 до 24 часов.

При работе над настоящим изобретением нами подробно изучены и представлены оптимальные режимы воздействия для достижения максимально возможных позитивных результатов.

Естественно, что для осуществления способов воздействия на сквален (его активация) могут быть использованы все известные средства и приспособления, позволяющие нагревать, облучать УФ- или ИК-лучами маслянистую жидкость, или пропускать через нее активную форму кислорода. Для этого никаких особых приспособлений, которые не были бы известны специалисту в данной области, не требуется.

В результате проведения вышеописанных манипуляций получен новый препарат АС, обладающий высокой противоопухолевой активностью. Главным достоинством нового препарата является его избирательная цитотоксичность в отношении неопластических (опухолевых) клеток.

Для подтверждения правильности выбора оптимальных режимов активации сквалена приведены данные в соответствующих таблицах (см. таблицы 1, 2, 3, 4, 5).

В таблице 1 показано изменение уровня поглощения при активации сквалена обработкой УФ-излучением при t 90oC в течение различного времени воздействия. Дальнейшая обработка сквалена УФ-излучением (свыше 12 часов) приводит к образованию белого осадка, потери прозрачности жидкости, что свидетельствует о происходящей денатурации вещества.

В таблице 2 показано накопление альдегидов (%) в зависимости от продолжительности тепловой обработки сквалена при 90oС. Оптимальным временем нагревания можно считать 1-6 часов.

В таблице 3 приведено влияние нагревания на плотность и объем сквалена при активации его в различные отрезки времени.

В таблице 4 показано изменение уровня поглощения при активации сквалена облучением в УФ-спектре. В таблице видно, что оптимальный уровень поглощения наблюдается при обработке в течение 3-6 часов. При увеличении времени облучения УФ-лучами более 12 часов препарат активированного сквалена теряет структуру, образуя группу полимерных комплексов.

ГЛАВА 2 Химические свойства сквалена

2.1.Сквален как природный ациклический терпен

Сквален СзоН 5 в - это природный ациклический тритерпен с шестью двойными связями, а именно: 2,6,10,15,19,23-гексаметил-2,6,10,14,18,22-тетракозагексаен.

Сквален используется в различных отраслях фармацевтической, парфюмерной и косметической промышленности. Это вещество является обязательным составляющей человеческой кожи и является промежуточным звеном при биосинтезе холестерина в витамин D. Сквален активно способствует нормализации процессов тканевого дыхания и обмена веществ в организме, имеет антиканцерогенный и противоопухолевой влияние, повышает устойчивость организма к разнотипных вирусов, бактериальных и грибковых инфекций и воздействия радиационного излучения [8, 9]. С точки зрения органической химии сквален является тритерпеном. Как известно, терпены представляют собой ненасыщенные углеводороды состава (С5Н8) , где они рассматриваются как продукты полимеризации изо­прена (2-метилбутадиена-1,3). Изопреноиды широко распространены в природе, к ним относятся убихинон, каротин, жирорастворимые витамины (A, D, K, E), циклические терпеноиды (камфора, лимонен).

Из органической химии известно, что терпены практически не растворимы в воде, хорошо растворимы в неполярных органических растворителях; легко окисляются, полимеризуются, гидрируются, галогенируются, изомеризуются. Ациклические терпены легко превращаются в циклические, в частности, сквален является промежуточным метаболитом в синтезе холестерина.

Биогенетическая взаимосвязь сквалена и холестерина предполагалась Чэнноном еще в 1926 г., однако достоверно участие сквалена в образовании углеродного скелета холестерина было установлено лишь в 1953 г. Независимо друг от друга Блох и Линен доказали, что мевалоновая кислота переходит в химически активный изопрен, из которого образуется ненасыщенный углеводород сквален, и в конечном итоге холестерин [12].

У человека в клетках сальных желез, по-видимому, происходит блокирование синтеза холестерина и накопление значительных количеств сквалена. Примечательно, что сквален не образуется в эпидермисе, поэтому его концентрация отражает содержание кожного сала. Так, определяя концентрацию сквалена, была измерена скорость продукции себума на коже головы мужчин (n=14), составившая 48,3 мкг/см2 час [16].

Сквален не только синтезируется в организме, но и усваивается из пищи и транспортируется с помощью липопротеидов очень низкой плотности по всему организму в различные ткани. Наибольшая концентрация сквалена обнаруживается в коже, значительные количества накапливаются в печени и жировой ткани [12].

Сходство молекулы сквалена с каротином, тушителем синглетного кислорода, позволяет предположить, что сквален также выполняет подобную функцию. Как было недавно показано, сквален является наиболее сильным тушителем синглетного кислорода среди всех липидов себума и его активность как антиоксиданта сравнима с 3,5-ди-трет-бутил-4-гидрокситолуолом [17]. Интересно отметить, что уровень сквалена в ЛПК коррелирует с концентрацией токоферола на поверхности кожи (коэффициент корреляции - 0,93, p<0,001), что, вероятно, объясняется их совместной секрецией сальными железами [18].

Наличие на поверхности кожи, постоянно подверженной воздействию различных факторов внешней среды, в частности, таких, как УФ-свет и кислород, столь уникальной молекулы, как сквален, содержащей шесть двойных связей, вызывает удивление и ставит вопрос о биологической роли этого соединения в составе ЛПК. Более 20 лет назад была обнаружена тесная корреляция между степенью липопероксидации себума и концентрацией сквалена, что позволило авторам работы высказать предположение о роли сквалена как своеобразного датчика-усилителя (“энхансера” от англ. enhance - усиливать), чувствительного к повреждающему воздействию УФ-света на кожу [19].

Чем же является сквален в составе себума? Антиоксидантом, принимающим на себя удар радикалов, возникающих постоянно на поверхности кожи, или антенной, получающей сигналы из окружающей среды и информирующей об этом организм, или же просто компонентом защиты кожи от резидентной микрофлоры? Попытка дать ответ на эти вопросы была проведена в серии работ, выполненных группой итальянских исследователей в Риме в Дерматологическом институте Ордена Непорочной Девы Марии (Istituto Dermopatico dell’ Immacolata, IDI), действующего под эгидой и при прямой финансовой и идеологической поддержке Ватикана. Основные результаты о роли сквалена в составе себума были опубликованы в научных журналах и обобщены в кандидатской диссертации Кьяры Де Люка “Сквален как акцептор прооксидантных воздействий на кожу человека”, защищенной в Москве в 2002 году [20].

2.2.Получение сквалена с растительного сырья

В чистом виде сквален получают из печени глубоководных акул (название сквален происходит от squalus - акула), что определяет высокую себестоимость полученного продукта. Сквален содержится в растительных маслах, в большинстве животных и растительных тканей. В традиционных масляных культурах его содержание, как правило, не превышает 1%. Так оливковое масло содержит 0,7% сквалена, масло из рисовых отрубей - 0,3%, масло пшеничных зародышей и кукурузное масло - 0,1%, в то время как в масле амаранта его содержание варьируется от 4,8 до 8% . Таким образом, семена амаранта является альтернативным источником натурального сквалена [9, 10].

Современный технологический процесс переработки масличных семян предусматривает следующие операции:

* подготовка к хранения и хранения семена;
* подготовка семян к изъятия масла;
* изъятия масла (прессованием, прямой экстракции, последовательным прессованием и экстракции)
* первичное и комплексное очистки масла;
* обработка шрота [2].

Однако низкое содержание масла и наличие большого количества крохмалистих веществ затрудняет влаготепловой обработку и прессования семян амаранта. Получить масло непосредственно из семян или муки амаранта на шнековых прессах практически невозможно, поэтому для получения масла из семян амаранта обычно используется экстракция оргагичнимы растворителями. Химический состав амарантового масла может отличаться в зависимости от производителя и способа получения (прессовый, экстракционный, флюидная экстракция, мацерация). Так, в составе экстракционной масле содержится больше фосфолипидов и токоферолов, а при холодном прессовании большей степени высвобождаются триглицеринов, свободные жирные кислоты и эфиры стеринов, при экстракции жидким СО2 и растительным маслом в экстрактах практически отсутствуют фосфорсодержащие вещества и воски, поэтому экстракты пригодны к использованию без дополнительной обработки [10 - 12].

Масло амаранта, благодаря своему уникальному биохимическому составу имеет ярко выраженные профилактические и лечебные свойства .Сочетание противоопухолевых, противовоспалительных, антибактериальных, кровоспиняючих и мочегонных качеств амарантового масла значительно повышает эффект лекарственной терапии онкологических, токсико инфекционных и других заболеваний. Амарантовое масло хорошо сочетается с любым медикаментозным лечением, снижает побочные эффекты активной терапии (химио- и радиотерапия), уменьшает проявления токсикозов, восстанавливает работу клеток и эпителия, желез внутренней секреции, кровеносной системы, предупреждает развитие эрозионных процессов [13, 14].

В современных условиях важно практическое использование амарантового масла в производстве продуктов диетического, лечебно-профилактического назначения, в технологиях парфюмерно-косметической и масложировой продукции.

Необходимо отметить, что в связи с распространением псевдо амарантовых масел и масляных экстрактов ( «Амарантовое масло», «Масло амарантовое», «Масло амаранта» и т.п.) актуальным является идентификация и количественное определение сквалена в растительных и купажированных маслах.

Цель исследований. Таким образом, целью исследования является разработка методики определения сквалена для проведения мониторинга масел по его содержанию.

Результаты исследований. Исследование сквалена проведено на газовом хроматографе НР 6890 фирмы HEWLETT PACKARD с автоматическим инжектором с делением потока (split), оснащенном термостатом колонки с программированием температуры, пламенно-ионизационным детектором и компьютерной системой со специальным программным обеспечением для автоматического интегрирования и идентификации пиков Chem . Station Ver.A.06.03. Для газохроматографического разделения определены следующие условия:

1. Температурный режим термостата колонки приведены в таблице.

Таблица - Температурный режим термостата колонки

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| скорость (° С / мин.) | температура, ° С | время, мин. |
| начальная | 250 | 0 |
| 15 | 280 | 1,0 |
| 15 | 340 | 4,0 |
| 0 | 350 | 1,0 |

1. инжекционная   система   с   делением потока (split): температура - 340 ° С; давление - 20,75 psi, коэффициент деления потока (split ratio) - 20: 1;поток деления - 49,9 мл / мин, общий поток - 55,3 мл / мин.
2. Газ - носитель - гелий; поток газа - носителя - 2,5 мл / мин.
3. капиллярная колонка Vf -5 ms с неподвижной неполярной фазой - (5% фенил) - диметилполисилоксан: длина 30 м, диаметр 0,32 мм, толщина пленки 0,25 мкм, высокотемпературная (максимальная температура - 350 ° С).
4. детектор пламенно - ионизационный (ПИД): температура - 350 ° С; поток водорода - 30 мл / мин; поток воздуха - 300 мл / мин; вспомогательныйпоток - 20 мл / мин; вспомогательный газ - носитель - азот.
5. объем введенной пробы - 1,0 мкл.
6. концентрация образца - 1,0 мг / мл.
7. Общая продолжительность анализа - 11,0 мин.

При исследовании как качественного так и количественного определения сквалена в маслах методом газожидкостной хроматографии использовано в качестве внутреннего стандарта сквалан [15].

Для подготовки проб брали навески образцов масел по 2 г (на весах Melter Toledo) в колбу объемом 250 мл.

Омыления пробы происходило при добавлении 50 мл раствора гидроксида калия в метаноле. Перед этим добавили к пробе 2 мл стандартного раствора сквалана (как внутренний стандарт) и кипятили в течение 1 ч. По окончании нагрева добавляли 50 мл бидистиллированной воды и охлаждали содержимое колбы.

После охлаждения проводили экстракцию неомилюемих веществ (это стерины, высшие углеводороды и спирты, спирты алифатического и терпенового ряда и другие органические вещества, присутствующие в продукте, которые после омыления едким калием и экстракции гексаном остаются в сухом остатке). Для этого переносили раствор в делительную   
воронку. Колбу промывали диэтиловым эфиром (40 мл) и переносили ее содержание в делительную воронку. Встряхивали воронку в течение 1 мин. и оставляли в покое для разделения слоев. Для удаления растворителя - диэтилового эфира - количественно переносили эфирный раствор с делительной воронки в колбу (250 мл), воронку промывали диэтиловым эфиром (5 мл) и выпаривали растворитель из колбы на ротационном испарителе. Сухой остаток высушивали в течение 15 мин. в сушильном шкафу, растворяли в диэтиловом эфире (1,0 - 1,5 мл) и переносили количественно в Виале. Оставляли на плитке под вытяжным шкафом до полного испарения эфира. Процедуру повторяли еще дважды. К полученному сухого остатка добавляли 1 мл растворителя - хлороформа. Для отделения стериновой фракции от других неомилюемих веществ использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ). Проявляли пластину 0,5% раствором родамина 6G в этаноле. Идентифицировали в свете УФ-лампы полосу (пятно), что соответствует стеринам, сравнивая с полосой стандарта ( «свидетеля»). Переносили идентифицированного полосу вместе с сорбентом в колбу для фильтрования, добавляли 5 мл диэтилового эфира. Прокипятили течение 15 мин и отфильтровали через бумажный фильтр. Повторили процедуру фильтрации с добавлением 5 мл эфира трижды. Оставляли растворитель испаряться из фильтрата, после чего добавили 1 мл эфира и перенесли количественно в Виале. Сквален был идентифицирован по времени удержания в соответствии со временем содержание стандарта (сквалена). Состав анализируемой смеси количественно рассчитали методом внутри шн ього стандарта, основанного на том, что к навески пробы добавляют известное количество внутреннего стандарта (сквалана) - сторонней соединения, дает на хроматограмме хорошо разделен пик (рис. 1, 2). Сальные железы расположены практически по всей коже за исключением ладоней и подошв и в подавляющем большинстве связаны с фолликулами волос (сальная железа волоса - glandula sebacea pili). Наиболее насыщена крупными сальными железами кожа волосистой части головы, щек и подбородка (400–900 желез на 1 см2). Сальные железы, расположенные в участках кожи, лишенных волос (губы, угол рта, головка полового члена, внутренний листок крайней плоти, клитор, малые половые губы, соски и околососковые кружки молочных желез), получили название свободных, или отдельных сальных желез (glandulae sebaceae separatae). Секреция сальных желёз составляет в среднем около 0,1 мкг/см2 в минуту, т. е. около 12 мг/ч для всей поверхности тела [4]. Отмечена значительная разница для отдельных участков, например, секреция в коже лба в 3–4 раза выше, чем в других частях тела.

Кожное сало у большинства желез выводится на поверхность кожи через корневое влагалище волоса, а у свободных желез - непосредственно из выводного протока. Секрет сальных желез придает эластичность волосу, смягчает эпидермис, придает ему водоотталкивающие свойства, регулирует испарение воды, препятствует проникновению в кожу некоторых веществ из окружающей среды, а также оказывает антигрибковый и антибактериальный эффекты.

Высказываемое иногда предположение о том, что у человека, большая часть покровов которого лишена волос, сальные железы являются рудиментом, является малоубедительным, поскольку деятельность этих желез находится под сложным гормональным контролем [5]. Высокая вариабельность состава секрета сальных желез у различных видов млекопитающих свидетельствует в пользу того, что этот секрет выполняет функцию химического сигнализатора. Однако этому предположению противоречит тот факт, что феромоны млекопитающих секретируются специальными железами, производящими пахучие липиды. Интересное предположение о роли сальных желез в терморегуляции было высказано недавно [6]. Согласно этому предположению роль ЛПК в терморегуляции зависит от температуры. А именно, при жаркой погоде (около 30о С) себум выполняет роль поверхностно-активного вещества (ПАВ), снижающего поверхностное натяжение пота. Благодаря этому в присутствии ЛПК пот не формирует капель, которые напрасно стекали бы с кожи, а распределяется по ее поверхности и, испаряясь с большой поверхности, эффективно охлаждает кожу. При низких температурах жиры, покрывающие волосы и кожу, создают водоотталкивающий слой.

Кроме того, ЛПК вносят свой вклад в экранирование эпидермиса от вредного действия УФ-света. А именно, оценка роли ЛПК как УФ-фильтров показала, что на коже лба, например, липиды кожного сала снижают пропускание света с длиной волны 300 нм на 10% [7].

Состав ЛПК у человека варьирует в зависимости от возраста, пола и генетических особенностей. Основные компоненты кожного сала в составе желез и на поверхности кожи приведены в таблице 2.

**Таблица 2**. Состав себума в сальных железах и на поверх­ности кожи взрослых людей [8]

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Липиды | Изолированные  сальные железы, % | Поверхность  кожи, % |
| Триглицериды | 57 | 42 |
| СЖК | 0 | 15 |
| Эфиры восков | 25 | 25 |
| Сквален | 15 | 15 |
| Эфиры холестерина | 2 | 2 |
| Холестерин |  | 1 |

Доминирующими по составу липидами себума человека являются триглицериды, которые не обнаруживаются в кожном сале других млекопитающих. Для большинства изученных видов млекопитающих в составе себума наиболее обычны стерины и их эфиры, а также диэфиры восков [9]. Отсутствие свободных жирных кислот (СЖК) в себуме cальных желез и появление их в составе ЛПК объясняется расщеплением триглицеридов на поверхности резидентными микроорганизмами, в частности Propionobacterium acne, живущими в протоках сальных желез и питающимися глицерином. Степень гидролиза три­глицеридов варьирует у людей от 5 до 50% [10].

Около 15% ЛПК занимает сквален (спинацен; 2,6,10,15,19,23-гексаметил-2,6,10,14,18,22-тетракозагексаен) - ациклический полиненасыщенный жидкий углеводород состава C30H50(рис. 1). Название сквален произошло от латинского Squalus - акула, печень которой богата этим соединением. В частности, в печени черной колючей акулы (Etmopterus spinax), живущей обычно на глубинах 300–1000 м, содержится 75% жира (у млекопитающих обычно около 5%), половину которого составляет сквален [11]. Кроме печени акул, сквален встречается в значительном количестве в оливковом, пальмовом, амарантовом маслах, а также в маслах из зародышей пшеницы и рисовых отрубей [12].

2.3.Животное сырье для получения сквалена

Высокое содержание сквалена в печени акул, как представителей хрящевых рыб, объясняется тем, что в отличие от костных рыб они не имеют плавательного пузыря. Большая часть жиров и масел имеет удельный вес около 0,90–0,92, но у сквалена он ниже и равен 0,86. Хотя разница и невелика, но для плавучести в морской воде эффект данного объема сквалена приблизительно на 50% больше, чем эффект равного объема обычного жира [13].

Первыми на сквален обратили внимание диетологи. Они заметили, что народы, которые потребляют в основном оливковое масло, имеют более благоприятную статистику по опухолям, чем те, которые питаются кукурузным и подсолнечным маслом [14].

Так как сквален является естественным компонентом кожного сала, он хорошо совместим с кожей. Исследования показали, что сквален не комедогенен в отличие от триглицеридов и жирных кислот кожного сала. Комедогенным действием обладают лишь пероксиды сквалена, которые получаются при перекисном окислении [15]. Так как сквален, в силу высо­кой ненасыщенности, способен к окислению, в косметике используют более стабильную форму - сквалан\* (С30Н62, пергидросквален или 2,6,10,15,19,23-гексаметилтетракозан) [2] (рис. 1).

Уникальной особенностью ЛПК человека, по сравнению с другими высшими обезьянами, является наличие сквалена, который встречается также только в коже млекопитающих, ведущих преимущественно водный образ жизни: канадской выдры (Lutra canadensis, 44% сквалена), американского бобра (Castor canadensis, 84% сквалена), а также кинкажу (Potos flavus, 94% сквалена), небольшого древесного зверька, населяющего леса от Южной Мексики до Северной Бразилии [24]. Недавно сквален был также обнаружен в себуме скалёпуса (Scalopus aquaticus), принадлежащего к кротовым и обитающего в поверхностном слое почвы лугов и полян восточной части США [25]. Примечательно, что скалёпус, кожное сало которого содержит около 70% сквалена, так же, как выдра и бобры, обитает на часто заливаемых дождем лугах.

Обнаружение сквалена в ЛПК человека свидетельствует в пользу водной теории происхождения человека, согласно которой такие уникальные черты рода Homo (отсутствие волосяного покрова, сильное развитие подкожной клетчатки, интенсивная продукция кожного сала, обильное потоотделение, бипедализм, опущение гортани и др.) объясняются полуводным образом жизни предков человека в прибрежной зоне озёр и рек [26]. Как бы то ни было, но наличие сквалена ставит вопрос о функциональной роли этого легко окисляемого соединения на поверхности кожи человека, подверженной весьма интенсивному УФ-облучению за счет дневного образа жизни и преимущественного расселения, как и остальных приматов, в тропической и субтропической зонах. Уникальными чертами ЛПК человека являются как сложность их состава, проявляющаяся в многообразии фракций липидов и жирных кислот, так и необычность, заключающаяся в значительном различии по составу между ЛПК и внутренних тканей [21, 22]. В связи с вышесказанным возникает вопрос о том, присущи ли эти уникальные черты только человеку или также другим высшим приматам? Для ответа на этот вопрос было проведено сравнительное исследование состава ЛПК груди у 30 практически здоровых мужчин и 34 представителей узконосых обезьян (Catarrhini) из 9 различных родов: Cercopithecus(мартышка), Macaca (макака), Mandrillus (мандрил), Saimiri (саймири), Papio (павиан), Pongo(орангутан), Gorilla (горилла), Pan (шимпанзе), Hylobates (гиббон) [23]. Результаты исследования состава ЛПК у наиболее близких к человеку человекообразных (Hominoidea) представлены в таблице 3.

**Таблица 3**. Состав липидов поверхности кожи человека и человекообразных обезьян (обозначения: сл. - следовые количества, менее 0,01%) [23]

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Липидная** **фракция, %** | **Вид** | | | |
| **Человек** (n=30) | **Горилла** (n=3) | **Орангутан** (n=3) | **Шимпанзе** (n=4) |
| Сквален | 11,8±0,6 | 0,00 | 0,00 | 0,00 |
| Эфиры холестерина | 1,4±0,2 | 3,5 | 46,6 | 4,9 |
| Холестерин | 1,4±0,1 | 1,7 | 1,8 | 1,8 |
| Триглицериды | 34,1±6,5 | 2,3 | сл. | 3,1 |
| Диглицериды | 1,3±0,2 | 0,8 | 0,4 | 1,0 |
| Моноглицериды | 0,4±0,1 | сл. | сл. | сл. |
| Моноэфиры восков | 24,5±2,1 | 37,4 | 2,0 | 43,6 |
| Диэфиры восков | 0,00 | сл. | сл. | сл. |
| СЖК | 24,6±6,1 | 3,4 | 2,5 | 7,4 |
| Прочие\* | 0,5 | 59,7 | 64,9 | 65,1 |

\* Прочие - неидентифицированные фракции, представленные преимущественно парафинами.

ЛПК человекообразных обезьян по сравнению с человеком характеризовались:

1) отсутствием легко окисляемого сквалена;  
2) низким уровнем триглицеридов и продуктов их гидролиза;  
3) различиями в спектрах жирных кислот и спиртов: наличием длинноцепочечных жирных кислот (до С32:0), разветвленных насыщенных жирных кислот с длиной более 18 звеньев (С18:0), моно- и диеновых цепей с двойной связью преимущественно в D9 и D9+D12 позициях, соответственно.

Как известно, согласно биогенетическому закону, о филогенезе биологических структур и функций можно судить по их онтогенезу. С этой точки зрения представляло интерес сравнить состав себума у детей и взрослых. Сравнительное исследование состава себума детей (до начала периода полового созревания) и взрослых показано в таблице 4.

**Таблица 4**. Состав (%) и количество (мкг/см2) ЛПК здоровых взрослых и детей [27]

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Параметр ЛПК** | **Взрослые** | **Дети** | **Относительный показатель у** **детей по отношению к взрослым** |
| Сквален, % | 12,2±0,7 | 7,1±1,4 | 0,58 |
| Эфиры холестерина, % | 1,3±0,3 | 6,0±2,3 | 4,62 |
| Эфиры восков, % | 24,3±2,5 | 12,6±3,1 | 0,52 |
| Триглицериды, % | 35,6±12,2 | 42,7±8,2 | 1,20 |
| Свободные жирные кислоты, % | 23,7±10,9 | 25,3±7,4 | 1,07 |
| Холестерин, % | 1,5±0,4 | 4,6±1,7 | 3,07 |
| Диглицериды, % | 1,4±0,3 | 1,7±0,4 | 1,21 |
| Общее количество липидов, мкг/см2 | 195,4±20,0 | 118,5±15,8 | 0,61 |

Как видно из представленных данных, содержание сквалена в себуме детей на 40% ниже, чем у взрослых, а содержание эфиров холестерина почти в 5 раз выше. У шимпанзе также содержание эфиров холестерина в 3,5 раза выше, чем у взрослого человека. По составу себума дети более близки к человекообразным обезьянам, чем взрослые люди, что, по-видимому, является проявлением биогенетического закона, т. е. близости себума на ранних стадиях развития к таковому у предков человека. Исследование проводили на линиях трансформированных клеток в культуре: L929 (фибробластоподобные клетки мыши), PC (феохромоцитома крыс), НЕР62 (гепатома крыс). Кроме того, определяли рост нормальных фибробластов кожи человека, полученных из Института ревматологии Российской Академии Медицинских Наук.

Исследовали влияние препарата в дозах 2,6 и 10 мкл/0,3 мл среды на рост клеток, синтез ДНК и белка. Использовали МТТ-тест, а также стандартные радиометрические методы о применении меченых предшественников - С14-тимидина и С14-лейцина.

Опыты проводили в пластиковых 24-луночных плейтах (Костар) или пробирках Лейтона с покровными стеклами при исходной концентрации 150http://img.findpatent.ru/chr/8226.gif103 кл/мл из расчета 6 лунок (стекол) на 1 концентрацию препарата или контроль.

Культуры просматривали в живом виде под инвертированным микроскопом. Покровные стекла с культурой фиксировали в живом виде после споласкивания в растворе Хэнкса в формалин-спирт-уксусной кислоте (7:2:1) и окрашивали гематоксилин-эозином по обычной методике.

Препарат растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) и добавляли в культуру через 1 сутки после высаживания клеток. Результат оценивали на вторые сутки роста (1 сут с препаратом) и 4-5 сутки роста (3-4 сут с препаратом).

Описание чертежей.

На фигуре 1 представлено влияние активированного сквалена (I) и нативного сквалена (II) на линию опухолевых клеток L929. На фигуре 1 конкретно представлено изменение скорости синтеза ДНК (% от контроля) под действием АС и нативного сквалена (НС). АС обладает выраженным цитостатическим действием, подавляя через 24 часа синтез ДНК до 3% от исходного уровня.

На фигуре 2 показан рост клеток под влиянием АС (I) и НС (II) средний показатель из 10 определений. На фигуре видно, что НС существенно стимулировал рост опухолевых клеток линии L929.

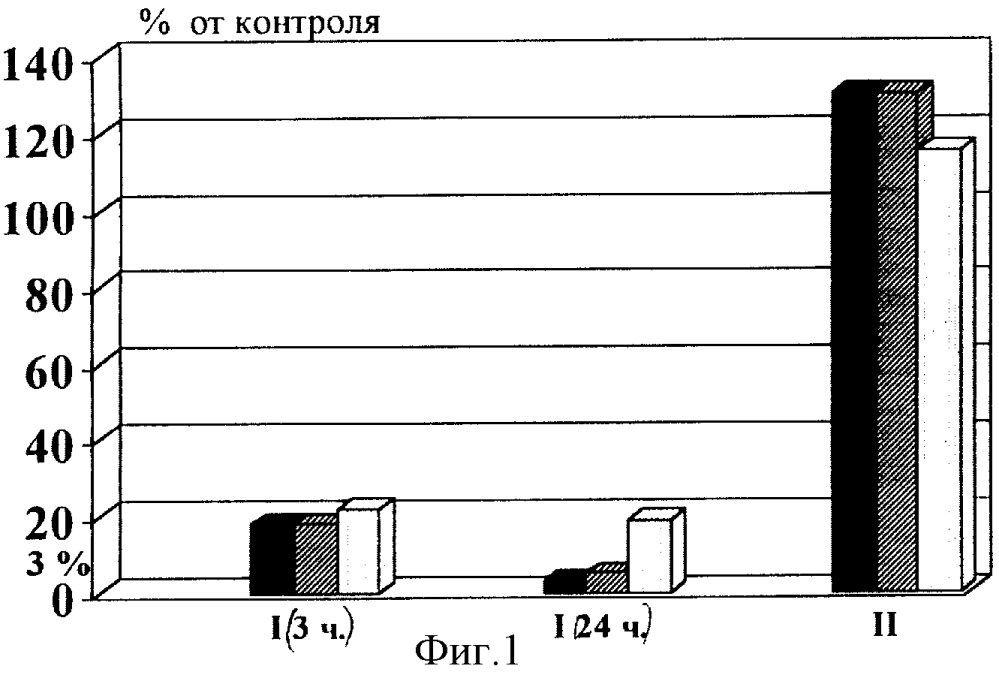
На фигуре 3 показаны результаты исследований влияния АС и НС на линию опухолевых клеток PC 12 через 3 часа после введения. Изучение скорости синтеза ДНК (% от контроля) показало, что синтез ДНК почти полностью блокируется.

Фигура 4 отражает рост опухолевых клеток линии PC 12 через 3 часа после введения препаратов АС (I) и НС (II).

На фигуре 5 показана скорость синтеза белка (% от контроля) для клеток линии PC 12 через 3 часа после введения препаратов АС (I) и НС (II). На фигуре отчетливо видно, что скорость синтеза белка в опухолевых клетках весьма значительно снижена под действием АС, в отличие от такового под действием НС.

Ниже приведено подробное описание гистологической картины культуры клеточной линии PC 12 под действием АС и НС.

В контроле PC 12 образует пласт, характер которого напоминает эпителиальный. В процессе роста его плотность значительно повышалась. К 4-5 суткам роста монослой состоял из довольно мелких плотно прижатых друг к другу клеток с фокусами монослойного роста. После обработки НС характер роста существенно не менялся. В то же время АС 10 мкл уже на первые сутки вызывал полную дегенерацию клеточного пласта. При этом какие-либо живые клетки отсутствовали.

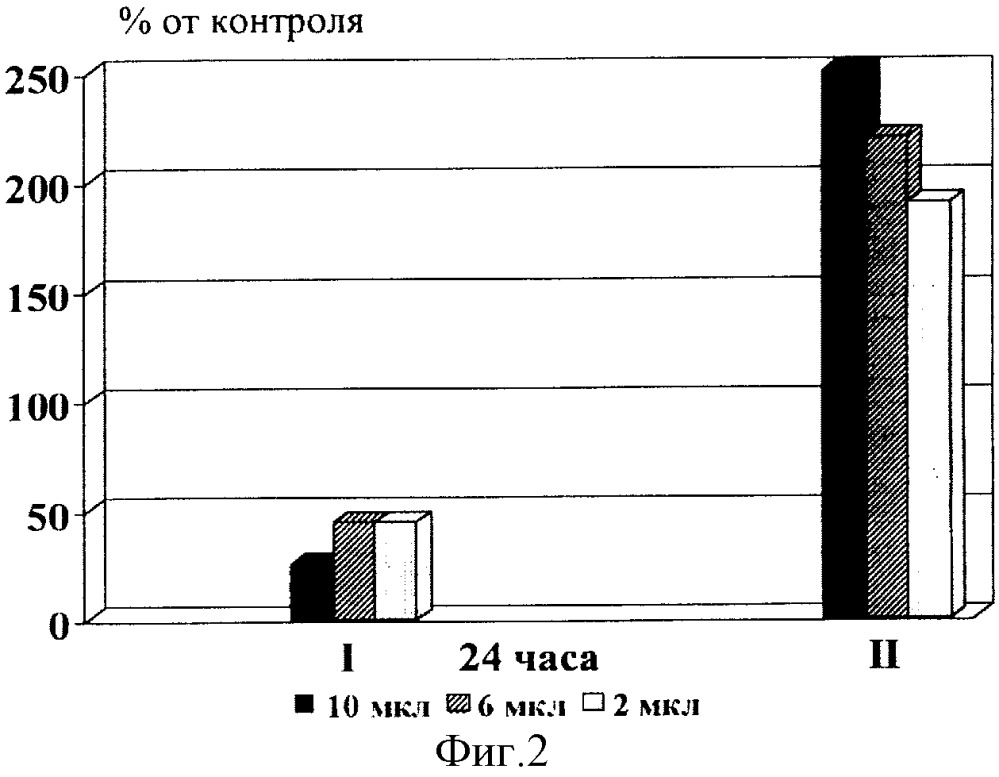


Концентрации 6 мкл (плотность посадки 830http://img.findpatent.ru/chr/8226.gif103 клеток) на первые сутки роста вызывали частичную дегенерацию клеточного пласта при сохранении отдельных участков или групп распластанных клеток. В то же время на 4-е сутки роста (3-и сутки с препаратом) наступала полная дегенерация клеток культуры. Гибель клеток в основном происходила по типу: пикноз ядер, сокращение размеров, эозинофилия цитоплазмы.

При концентрации препарата в 2 мкл клеточный пласт в основном сохранялся при задержке его дальнейшего роста и развития. Митозы отсутствовали.

Далее приводим описание гистологической картины действия АС на клетки культуры L929 (фибробластоподобные клетки мыши).

При концентрации 10 мкл через 1 сутки наблюдалась дегенерация культуры, выражающаяся в нарушении строения клеточного пласта (монослоя) и дегенерации клеток. Клетки приобретали округлую форму, наблюдалась эозинофилия цитоплазмы, нарушение структуры ядра, пикноз ядер, вакуолизация цитоплазмы. На 3-и сутки фиксировали полную гибель клеток.

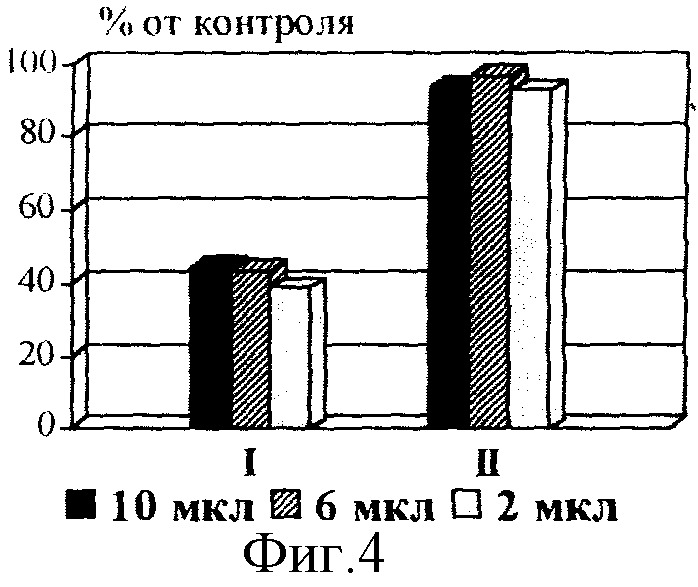


При концентрации 6 мкл среди монослоя присутствовали отдельные гибнущие пикнотичные клетки или их группы. Цитотоксический эффект на разных стеклах был выражен неравномерно и более развит на участках с рыхлым расположением клеток. В то же время в культуре встречались малоповрежденные участки, в которых иногда наблюдались отдельные митозы. На 3 сутки жизнеспособность сохраняли лишь отдельные участки зараженных клеток.

На фигурах 6, 7, 8 приведено влияние АС и НС на культуру опухолевых клеток гепатомы 62 (среднее из 10 определений). На фигуре 6 показана скорость синтеза ДНК, которая значительно снижена под действием АС в сравнении с НС, особенно через 24 часа. На фигуре 7 показан рост клеток гепатомы 62 под влиянием АС (I) и НС (II), который под действием АС снижен в сравнении с НС. На фигуре 8 представлена скорость синтеза белка в линии клеток гепатомы 62 через 24 часа после введения АС (I) и НС (II), которая значительно снижена под действием АС в сравнении с НС.

Изменение циотоксических свойств сквалена в зависимости от времени облучения (ИК) на объект клетки PC 12 (феохромацитома крыс).

Рост клеток через 24 часа после введения 6 мкл облученного сквалена представлен на фигуре3. На фигуре представлено среднее из 10 определений.



Как видно на фигуре, нативный сквален не оказывал существенного влияния на рост клеток PC 12. Облучение в течение 1 и 3 часов существенно не меняло цитотоксических свойств сквалена. Только через 6 часов облучения препарат приобретал цитотоксические свойства и существенно угнетал рост опухолевых клеток. Однако 18-часовой период облучения приводит к снижению противоопухолевой активности препарата.

Таким образом, наиболее выраженным противоопухолевым действием обладал сквален, облученный в течение 6-12 часов.

Все описанные изменения подтверждены гистологическими исследованиями.

Изменение цитотоксических свойств сквалена в зависимости от времени термообработки. Объект клетки PC 12 (феохромацитома крыс).

Рост клеток PC 12 через 24 часа после введения 6 мкл термообработанного (90oС) сквалена представлены на фигуре 10.

Как видно на фигуре 10, нативный сквален не оказывает существенного влияния на рост опухолевой ткани. Однако уже через час термообработки препарат проявил выраженную цитотоксичность. Фонд клеток значительно уменьшился (до 69%). Сохранились отдельный участки распластанных клеток.

Аналогичные результаты показали препараты, подвергнутые 3 и 6-часовой термообработке. При дальнейшем увеличении времени нагревания препарат терял цитотоксичность и количество выживших клеток составляло 60-70% от контроля.

Таким образом, наиболее выраженным противоопухолевым действием обладал сквален, подвергнутый термообработке от 1 часа до 6 часов.

Сходную картину наблюдали и при введении 6-часового облучения препарата. После 12-часового облучения, несмотря на значительную степень поражения культуры, были выявлены множественные митозы, что свидетельствует о восстановлении клеточной массы. Не исключено, что цитотоксичность в данном случае определялась высоким уровнем альдегидов (количество формальдегида повышено в 10 раз), тогда как этот показатель был незначительно увеличен (10%) после 3-часового облучения.

В дальнейшем на 3-е сутки полную гибель клеток структуры выявили лишь после 3-часового облучения. После 6-часового облучения сохранилось до 15% клеток.

Таким образом, наиболее выраженным противоопухолевым действием обладал облученный сквален в течении 3-х часов.

Дальнейшие эксперимент проводились на подопытных мышах, зараженных лейкозом.

Действие препарата (АС) на развитие лейкоза Р388.

Опыты проведены на мышах - гибридах BDF1 массой 22-24 г с внутрибрюшинно (в/б) привитыми клетками лейкоза Р388 в количестве 106 клеток на мышь.

Для изучения кинетики роста лейкоза Р388 ежедневно забивали по 2-3 мыши из групп контрольных и леченых животных, извлекали асцитическую жидкость и после многократного промывания брюшной полости физиологическим раствором подсчитывали общее число опухолевых клеток в брюшной полости мыши с помощью камеры Горяева.

АС в количестве 0,1 мл. x 2 раза в день вводили per os, начиная с 3-х суток после прививки. В контрольной группе животные получали 0,1 мл препарата НС 2 раза в день. Курс введения - 5 дней.

Основные количественные параметры, характеризующие эффективность химиотерапии, сведены в таблицу 6.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что препарат АС обладает выраженным противоопухолевым действием: многократно тормозит рост опухоли в течение 17 суток наблюдения и влияет на увеличение продолжительности жизни мышей. Все контрольные животные погибают на 10-е сутки после прививки опухоли при накоплении в брюшной полости лейкозных клеток - порядка 108 (табл.6), тогда как в опытной группе количество клеток снижается (под микроскопом единичные клетки). Через 7 дней у опытных животных число лейкозных клеток увеличивалось, но не достигало исходных данных.

Клинические испытания препаратов.

1. Лечение острых лейкозов.

Под наблюдением находилось 40 больных с различными формами лейкоза. Возраст больных от 16 до 22 лет. Срок наблюдения за больными 1 год.

Лечение проводили в стационарных условиях (3 месяца). Суточные дозы препарата 0,5 мл на 1 кг веса. Введение per os. Кратность приема - 4-5 раз в день. Увеличение дозы препарата сопровождалось нарушением всасывания, диареей и тем самым снижением клинического эффекта.

Диагноз поставлен на основании клинической карты и лабораторных данных (анализ крови пунктатов костного мозга). В качестве контроля раз в 2 недели исследовали содержание бластов в пунктах костного мозга и полный анализ крови.

Одновременно проводили изучение биохимических показателей крови для контроля за функциями внутренних органов (печени, почек, тканей мышц).

Клинические и параклинические наблюдения показали, что наиболее эффективно поддаются лечению лимфобластный и плазмобластный лейкозы. Симптомы интоксикации были устранены в течение 2-х недель, хотя количество бластов за этот период в пунктатах костного мозга оставались неизменными. Однако в периферической крови отметили увеличение количества эритроцитов, тромбоцитов, активности трансаминазы, креатинфосфокиназы до физиологических значений.

В дальнейшем выявили снижение количества бластов в пунктатах костного мозга больных острым лейкозом (таблица 7).

Как видно из представленных данных, в процессе лечения число бластов снижается более медленно, чем при лечении препаратами химиотерапии. Однако АС не имеет побочных реакций и осложнений. Состав красной и белой крови полностью нормализуется у больных к концу 1 месяца лечения и в течение всего периода наблюдения (1 год) достоверно не меняется.

Клинические симптомы заболевания устранялись в первые недели лечения и не беспокоили больного в течение всего срока наблюдения.

Таким образом, АС в дозах 0,5 мг/кг веса не менее эффективно устранял симптомы заболевания и не оказывал токсического воздействия на организм больного. Никаких признаков поражения нервной системы, печени, почек, а также подавления роста красной крови и тромбоцитов, характерных для комплекса гормональных и химиотерапевтических препаратов, на фоне стечения АС не наблюдали. Напротив, в процессе лечения отметили восстановление нарушенных ранее физиологических параметров.

При других формах лейкоза терапевтический эффект проявлялся в том же объеме, но в более растянутых временных интервалах. Первые клинические и параклинические признаки ремиссии заболевания фиксированы к концу 1-го месяца от начала лечения. Нормализация показателей красной и белой крови, а также биохимических параметров наступала в 40-70 дневном интервале, тогда как устранение бластов (пунктаты костного мозга) фиксировали только после 100-120 дневного лечения. Как и при других формах осложнений и побочных реакций не зафиксировано.

Изобретение иллюстрируется примерами на конкретных пациентах, имеющих другие формы рака.

Пример 1.

Больной М., 53 лет, поступил в хирургический стационар 15 мая 2000 года в удовлетворительном состоянии с жалобами на периодически возникающие боли в области заднего прохода с иррадиацией в крестцовую и поясничную области. Считает себя больным в течение последних 4-х месяцев, когда без видимой причины возникло кровотечение после дефекации в объеме 10-15 мл, затем появился болевой синдром. Явлений кишечной непроходимости не отмечалось.

При осмотре явлений опухолевой кахексии и интоксикации нет. По данным общего анализа крови - умеренная анемия 95 г/л.

При ректороманоскопии выявлена опухоль ампулярного отдела прямой кишки на 2/3 диаметра.

Клинический диагноз: рак прямой кишки T2N1M0. Низкодифференцированная аденокарцинома с элементами плоскоклеточного рака без ороговевания.

В течение 56 дней пациенту проводилось лечение препаратом АС (сквален, облученный УФ в течение 3-х часов; суточные дозы 20 мл или 4 мл 5 раз в день).

На протяжении курса лечения кровотечение не рецидивировало, болевой синдром полностью купирован. Явления кишечной непроходимости не нарастали.

С целью контроля противоопухолевой активности препарата пациенту каждые две недели выполняли ректоскопию и биопсию опухоли с последующим морфологическим исследованием на предмет степени цитолиза раковых клеток.

Биопсия опухоли: 14, 28, 42, 56 день.

Результаты биопсии: 14 день - цитолиз более 50% опухолевых клеток; 28 день - цитолиз более 70% опухолевых клеток; 42 день - цитолиз более 90% опухолевых клеток; 56 день - единичные опухолевые клетки.

Опухолевая ткань постепенно замещается грануляционной тканью с очагами ангиоматоза и обилием миофибробластов и лимфоцитов, среди полей которой гистологически наблюдаются остатки тубулярной аденокарциномы, задавленной грануляционной тканью. Видоизмененная ткань со следами опухолевых клеток требует удаления.

Больному выполнена операция: брюшнопромежностная экстирпация прямой кишки. Расширенная лимфаденэктомия.

Пациент выписан на 10 сутки после операции в удовлетворительном состоянии.

Пример 2 Больной Н., 64 лет, поступил в хирургический стационар 15 мая 2000 года с жалобами на слабовыраженные, постоянные боли в левой половине живота больше внизу, явления копростаза, хронического запора.

Считает себя больным в течение последних 8 месяцев, когда после очистительной клизмы по поводу хронического запора появилась кровь в кале в объеме примерно до 30-50 мл. После этого кровотечение не повторялось. Однако через 2 недели появились постоянные ноющие боли в левой половине живота с иррадиацией в поясничную область.

Поступил в стационар для обследования и лечения.

При исследовании выявлена опухоль ректосигмовидного отдела толстой кишки со смешанным типом роста с прорастанием в забрюшинную клетчатку и зону подвздошных сосудов слева, выявлены метастазы в нижнюю долю левого легкого.

У больного при обследовании выявлена выраженная легочно-сердечная недостаточность, в анамнезе - инфаркт миокарда 1998, 1999 гг., стенокардия напряжения 2 функциональный класс, недостаточность кровообращения 2 степени. В легких - эмфизема, хронический бронхит.

Учитывая данную клиническую картину и состояние больного, решено проводить симптоматическую терапию, показано оперативное вмешательство только при нарастании симптомов кишечной непроходимости.

Анализ биопсийного материала позволил поставить диагноз. Диагноз: рак ректосигмоидного отдела толстой кишки T2N1M1. Рак сложного строения с преобладанием элементов умеренно- и малодифференцированной аденокарциномы и железисто-плоскоклеточного рака.

С первого дня госпитализации, наряду с традиционным лечением, пациент получал препарат АС, полученный термообработкой. По окончании 2-ой недели лечения у пациента изменился характер болей: стали менее интенсивными, отсутствует иррадиация в поясничную область. Стул стал регулярным 2-3 раза в неделю, кровотечений не было.

Биопсию проводили 1 раз в месяц. Гистологическое исследование показало, что дегенеративные изменения представлены в виде ослизнения опухолевой ткани, некроза и кальцификации ее.

В конце лечения констатировали гибель 90% опухолевых клеток.

С целью предотвращения явлений кишечной непроходимости через 4,5 месяца пациенту выполнена паллиативная операция - частичная резекция опухоли с выведением колостомы на переднюю брюшную стенку. Обнаружены метастазы и проведен анализ (гистология). В микропрепарате пациента выявлен цитолиз более 35% опухолевых клеток, единичные очаги кровоизлияний, некробиоза и некроза опухолевой ткани не выявлено.

Через 7 дней пациент выписан по месту жительства для амбулаторного лечения. Лечение активированным скваленом прекращено. Курс лечения 150 дней. Осмотр через два месяца показало, что состояние больного стабильное. Болевой синдром отсутствует.

Пример 3 Пациент Б., 58 лет, поступил в хирургический стационар с жалобами на умеренные боли в области заднего прохода, периодически возникающие кровотечения после дефекации, отмечает похудание и общее недомогание.

Считает себя больным в течение последних 6 месяцев, когда впервые появились чувство дискомфорта в области ануса, кровотечение после дефекации. При амбулаторном обследовании - колоноскопии - выявлена опухоль на границе сигмовидной и прямой кишки, имеющая экзофитный рост. Признаков кишечной непроходимости не выявлено.

Поступил для дальнейшего лечения в стационар. При поступлении состояние удовлетворительное, явлений интоксикации не отмечено. Болевой синдром в первые дни пребывания в стационаре купировался парентеральным введением наркотических анальгетиков - до 5-6 раз в сутки.

Клинический диагноз: рак прямой кишки T2N0M0. Высокодифференцированная аденокарцинома с элементами перстневидноклеточного рака.

В течение 130 дней пациенту проводилось лечение препаратом АС (сквален, активированный термообработкой). Суточная доза - 30 мл, прием 5 раз в день по 6 мл.

На протяжении всего курса лечения явления кишечной непроходимости не проявлялись, кровотечение после дефекации не возобновлялось, болевой синдром значительно уменьшился (до 1 инъекции ненаркотических анальгетиков).

С целью контроля противоопухолевой активности препарата пациенту каждые две недели выполняли ректоскопию и биопсию опухоли с последующим морфологическим исследованием на предмет степени цитолиза раковых клеток.

Биопсия - 14, 28, 42, 56, 84 день и интраоперационная морфология (130 день).

Результаты биопсии: 14 день - цитолиз более 50% раковых клеток;  
28 день - более 70%;  
42 день - более 90%;  
56 день - более 90%;  
84 день - более 90%;  
130 день - более 90%.

После проведенного лечения выполнена операция: брюшнопромежностная экстирпация прямой кишки. Расширенная лимфаденэктомия.

Послеоперационный период протекал без особенностей. Пациент подготовлен к выписке.

Через год после начала лечения пациент был обследован повторно: 1) боли не беспокоят больного; 2) кровотечение не зарегистрировано; 3) явлений непроходимости нет; 4) признаков рецидивирования опухоли нет.

Пример 4  
Больной Р. , 67 лет, поступил в хирургический стационар 15 октября 2000 года в состоянии средней тяжести, с жалобами на слабость, утомляемость, общее недомогание, тошноту, рвоту после приема пищи, выраженные интенсивные боли в области живота без точной локализации.

Болен в течение последних 6 месяцев, когда на фоне полного здоровья появилась тошнота, общая слабость, затем присоединился выраженный болевой синдром, некупируемый приемом ненаркотических анальгетиков. При обследовании по месту жительства выявлен генерализованный опухолевый процесс - рак антрального отдела желудка T3N1M1 с распространением процесса на брюшину - канцероматоз. При обследовании в клинике - диагноз подтвержден. Случай признан неоперабельным. Назначена симптоматическая терапия.

При осмотре в стационаре - в сознании, заторможен, в контакт вступает неохотно, негативен к медицинскому персоналу. Кожные покровы обычной окраски, тургор снижен. Гипотрофия мышц и подкожной клетчатки. Живот умеренно увеличен в размере, симметричен, немного вздут. Болезненный при глубокой пальпации в эпигастрии. Печень +2,5 см от края реберной дуги, плотная.

Выраженный болевой синдром купировался введением наркотических анальгетиков (промедол, омнопон) до 7-8 раз в сутки. Пациент отмечал полное отсутствие аппетита, прием пищи сопровождался тошнотой и рвотой.

С первого дня госпитализации, наряду - с традиционным лечением, пациент получал препарат АС. Положительные результаты были получены в течение первых недель лечения. Изменился характер болей - локализовались в эпигастрии, стали менее интенсивными, более тупыми и ноющими. С 10 дня для купирования болей было достаточно 1-2 инъекции наркотического анальгетика. К концу первой недели купировались явления диспепсии (тошнота и рвота), появился аппетит. Пациент стал себя обслуживать, психически более контактен, доброжелателен. Асцит в течение 3 месяцев не нарастал. Печень +2 см от края реберной дуги.

На протяжении всего лечения пациенту каждые две недели выполнялась гастроскопия и биопсия опухоли с последующим морфологическим исследованием на предмет степени цитолиза опухолевых клеток, обнаружены множественные метастазы при биопсии.

Биопсия опухоли: 14, 28, 42, 56, 84 день.

14 день - цитолиз более 30% опухолевых клеток;  
28 день - цитолиз более 50% опухолевых клеток;  
42 день - цитолиз более 70% опухолевых клеток;  
56 день - цитолиз более 80% опухолевых клеток;  
84 день - цитолиз более 90% опухолевых клеток;  
Заключение: наблюдаются явления начинающейся деградации опухоли.

Пример 5  
Больной Н. , 68 лет, поступил в хирургический стационар 18 октября 2000 года с жалобами на чувство дискомфорта после приема пищи, тяжесть в эпигастрии, периодически диспепсические явления. Болевого синдрома нет.

При диспансерном обследовании в сентябре 2000 года во время гастроскопии выявлена опухоль желудка. Направлен для хирургического лечения.

При поступлении признаков опухолевой кахексии и интоксикации нет. По данным анализов изменений не выявлено.

Живот симметричен, не вздут, участвует в акте дыхания, симптомов раздражения брюшины нет, печень по краю реберной дуги, асцита нет.

Диагноз после первой биопсии: рак препилорического отдела желудка T1N0M0. Высокодифференцированная тубулярная аденокарцинома.

Пациенту с первого дня нахождения в стационаре назначен препарат АС (сквален, активированный УФ-облучением), 25 мл в сутки (5 раз в день по 5 мл).

На протяжении всего курса лечения каждые две недели пациенту выполнялась гастроскопия и биопсия опухоли с последующим морфологическим исследованием на предмет степени цитолиза опухолевых клеток. Результаты приведены ниже.

Биопсия опухоли: 14, 28, 42 день.

Результаты биопсии:  
14 день - цитолиз более 30% опухолевых клеток;  
28 день - цитолиз более 60% опухолевых клеток;  
42 день - цитолиз более 70% опухолевых клеток.

После окончания курса выполнена операция: гастроэктомия, лимфаденэктомия.

На 10 сутки после оперативного вмешательства пациент выписан в удовлетворительном состоянии.

Осмотр через 6 месяцев показал, что состояние больного остается стабильным, признаков регресси опухоли нет.

Таким образом, активированный сквален (независимо от метода обработки) зарекомендовал себя как эффективный противоопухолевый препарат, не имея при этом ни побочных реакций, ни осложнений во время длительного приема.

### ГЛАВА 3

### Использование сквалена в фармакологии и косметической индустрии

### 3.1.Сквален в липидах поверхности кожи при себорейном и атопическом дерматитах

Одной из функций ЛПК является поддержание целостности рогового слоя эпидермиса, нарушение этой функции приводит к легкому отделению роговых чешуек кожи, являющемуся одним из симптомов себорейного и атопического дерматитов. У больных с атопическим дерматитом наблюдается пониженный уровень церамидов в липидах рогового слоя эпидермиса, что вызывает появление дефектов в интерцеллюлярных мембранах рогового слоя и, соответственно, нарушает их барьерную функцию. Это, в частности, проявляется в увеличении трансэпидермальной потери воды и сухости кожи [27]. В местах проявления заболевания барьерные свойства рогового слоя существенно снижены, что способствует проникновению в кожу различных раздражителей, токсинов и инфекционных агентов.

Изучение состава ЛПК у пациентов, страдающих часто встречающимися дерматитами - атопическим и ний в составе себума, показанных в табл. 4. А именно, при атопическом дерматите, как у детей, так и у взрослых, в составе ЛПК увеличен уровень холестерина (в 1,6 раза) и его эфиров (в 1,8 раза); отмечается также заметное снижение общей концентрации ЛПК (на 12% у взрослых и на 26% у детей) и уменьшение содержания в ЛПК сквалена (на 12% у взрослых и на 21% у детей) [28].

**Таблица 5**. Относительные изменения состава и количества ЛПК у больных атопическим или себорейным дерматитами по сравнению со здоровыми [28, 29]. Относительные изменения рассчитаны как отношения соответствующих средних показателей в группах пациентов с дерматитами к здоровым.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Относительное изменение параметра ЛПК** | **Атопический дерматит (дети)** | **Атопический дерматит (взрослые)** | **Себорейный дерматит (взрослые)** |
| Сквален | 0,79 | 0,89 | 0,90 |
| Эфиры холестерина | 1,75 | 1,85 | 1,30 |
| Эфиры восков | 0,67 | 0,89 | 0,92 |
| Триглицериды | 0,97 | 0,92 | 1,16 |
| Свободные жирные кислоты | 0,98 | 1,21 | 0,84 |
| Холестерин | 1,61 | 1,60 | 1,42 |
| Диглицериды | 1,12 | 0,93 | 0,96 |
| Общее количество липидов | 0,74 | 0,88 | 0,87 |

Априори различия в липидном составе ЛПК на участках кожи с проявлениями атопического дерматита могут быть обусловлены как различием в составе продуцируемых в эпителии липидов, так и модификацией ЛПК резидентными микроорганизмами, обитающими на коже. У взрослых концентрация свободных жирных кислот в ЛПК была в среднем на 21% выше у лиц, страдающих атопическим дерматитом, по сравнению со здоровыми. Это свидетельствует о повышении липолитической активности резидентных микроорганизмов. Не исключено, что снижение концентрации ЛПК и изменение их состава снижает резистентность кожи по отношению к поселяющимся на её поверхности микроорганизмам.

Себорейный дерматит встречается у 1–3% населения, несколько чаще у молодых - 3-5%, а также является частым проявлением носительства вируса иммунодефицита человека. Сравнительное исследование состава ЛПК у лиц с себорейным дерматитом не выявило достоверных различий между лицами, имеющими положительную или отрицательную реакцию на вирус иммунодефицита человека [29]. Общее количество липидов у лиц с себорейным дерматитом снижено на 13%, а триглицеридов повышено на 16% (табл. 4). Однако по сравнению со здоровыми лицами, на участках кожи с проявлениями заболевания наиболее выражены изменения в концентрации холестерина и его эфиров, уровень которых повышен примерно на 40%, при этом уровень сквалена снижен на 10%.

Интересно отметить, что изменения в составе ЛПК у лиц с признаками как атопического, так и себорейного дерматита качественно схожи: уменьшение общего количества липидов и сквалена, повышение концентрации холестерина и его эфиров.

3.2.Использование сквалена в косметической отрасли

Липидное покрытие обеспечивает поддержание эластичности, влажности и мягкости кожи. Сквален составляет более 11% всех поверхностных жиров. Сквален содержится в кожных клетках, ушной сере, волосяном жире, сальных выделениях.

С точки зрения дерматологии, сквален — высококачественный эмолент (смягчающий агент). Сквален способствует восстановлению, полноценному питанию и увлажнению сухой кожи, склонной к шелушению и раздражениям. Благодаря естественному сродству с кожей, сквален легко проникает через эпидермис, не оставляя чувства жирности, одновременно придавая коже ощущение мягкости и шелковистости.

Исследования показали, что сквален не комедогенен. Глубоко лежащие слои кожи содержат комплексную смесь липофильных и гидролипидных компонентов. Они служат непроницаемым барьером, защищающим от инвазии микроорганизмов, благодаря чему кожа сохраняет влагу, остается упругой и эластичной. При нанесении на кожу сквален легко распределяется, образуя защитную пленку, которая препятствует потере влаги, что, в свою очередь, способствует улучшению кожного дыхания.

Сквален не участвует в метаболизме и выводится из организма без изменений естественным путем.

Если в организме появляется недостаток сквалена, то кожа человека начинает быстрее стареть. В здоровой и молодой коже концентрация этого компонента достигает 40% процентов, а после 25 лет его концентрация начинает постепенно снижаться, и требуется дополнительное поступление сквалена .

Сквален придает коже гладкость и мягкость и обеспечивает сохранность косметических средств – таким образом, при включении сквалена производитель может отказаться от использования различных стабилизаторов и других вспомогательных ингредиентов, ведь это вещество способно продлевать срок годности косметики.

В попытках определить особую роль сквалена в биохимических процессах обнаружилось много его интересных свойств. Сквален, являющийся производной натурального витамина А, при синтезе холестерина превращается в его биохимический аналог 7-дегидрохолестерин, который при солнечном свете становится витамином D. Витамин A лучше всасывается кожей, когда он растворен в сквалене. Сквален также обладает противогрибковым эффектом. Он является защитным средством как для пациентов с эпидермической карциномой, так и для людей с обычным типом карциномы, возникшей под действием токсичных углеводов, чрезмерном облучении солнечными лучами или ультрафиолетом.

**Омолаживающее.** Сквалан повышает эластичность кожи, ускоряет ее регенерацию, способствует разглаживанию мелких морщин, стимулирует антиоксидантные процессы.

**Смягчающее**. За счет естественного сродства с составом кожного жира молекулы сквалена глубоко впитываются в кожу, пронося туда влагу и полезные вещества, облегчают состояние пересушенной и очень чувствительной коже, избавляют ее от шероховатости и шелушения.

**Противовоспалительное.** Сквалан усиливает клеточный иммунитет, стимулирует выработку антител, борющихся с бактериями, оказывает противогрибковое действие.

**Заживляющее.** Сквалан интенсивно восстанавливает роговой слой кожи, стимулирует клеточный рост, способствует глубокому проникновению в кожу витаминов и микроэлементов.

**Укрепляющее.** Сквалан участвует в укреплении кератиновых чешуек волоса, смягчает кожу головы, способствует питанию волосяных луковиц.

**Фиксирующее.** Сквалан способен регулировать диффузию веществ и влияет на однородное распределение пигментов в косметике, сохраняя стойкость цвета.

В медицине сквалан включается в состав препаратов для наружной терапии воспалительных заболеваний кожи. При этом используется свойство сквалана глубоко проникать в кожу, проводя с собой элементы других веществ, благодаря этому сильные лекарства можно наносить на кожу точечно, не опасаясь побочных эффектов.

Косметику со скваланом хранят при обычных комнатных условиях, поскольку сквалан абсолютно устойчив к окислению и стабилен при перепадах температур. Косметические средства, в состав которых включен сквален, нужно хранить в плотно завинченном темном флаконе, а после вскрытия – на нижней полке холодильника.

### Косметика в которой встречается сквалан:

* увлажняющая сыворотка для лица и тела
* увлажняющие, смягчающие маски для лица
* эмульсия для кожи вокруг глаз
* крем для сухой и чувствительной кожи
* ночной крем, маски для увядающей кожи
* крем, лосьон, масло для загара
* лосьон для проблемной кожи
* защитный крем для лица и рук
* бальзам для губ
* помада
* тени для век
* крем от трещин на пятках
* смягчающий крем для рук
* масла для ванны

### Применение косметики с натуральным скваленом нежелательно:

* при склонности к аллергии
* при проблемной коже, потому что натуральный сквален комедогенен.

Заключение

Уникальной особенностью человека среди приматов и большинства других млекопитающих является наличие в липидах поверхности его кожи достаточно большого количества сквалена (15%). Сквален является тритерпеном, принадлежащим к обширной группе изопреноидов, куда входят такие биологически важные молекулы, как b-каротин, убихинон, токоферол. Хотя в биохимии сквален упоминается чаще всего как предшественник холестерина, следует иметь в виду, что на его синтез расходуется только около 10% [12], а функциональная роль остального сквалена в организме остаётся невыясненной. Каковы же возможные причины высокой концентрации сквалена в коже человека?

Одним из первых предположений является роль сквалена как антиоксиданта, обладающего высокой способностью подобно b-каротину тушить синглетный кислород, который образуется в реакциях фотоокисления биологических субстратов в присутствии окрашенных соединений - фотосенсибилизаторов.

Повышенное образование синглетного кислорода наблюдается, в частности, при порфириях и сопровождается воспалением и утолщением кожных покровов, а также повышенным шелушением клеток эпидермиса. Последний из упомянутых симптомов обусловлен, по-видимому, окислением ненасыщенных жирных кислот в составе ламеллярных бислоёв, заполняющих пространство между кератиноцитами наподобие цемента в кирпичной кладке. В связи с вышесказанным можно ожидать, что уменьшение в ЛПК концентрации сквалена, играющего роль тушителя синглетного кислорода, может также сопровождаться шелушением эпидермиса. Действительно, как следует из полученных результатов, при атопическом дерматите наблюдается заметное снижение концентрации сквалена в ЛПК: у взрослых на 12%, у детей на 21%. Несколько меньшее снижение (на 10%) уровня сквалена в ЛПК наблюдается при себорейном дерматите.

С позиций концепции, рассматривающей сквален как тушитель синглетного кислорода, находит объяснение уникальность наличия сквалена в ЛПК кожи человека по сравнению с другими приматами. В данном случае отсутствие развитого волосяного покрова, безусловно экранирующего у других животных кожу от фотоповреждений, компенсируется у человека наличием фотопротекторной системы, тушащей синглетный кислород.

Наличие сквалена в кожном сале животных, имеющих хорошо развитый покров шерсти - выдры, бобра, скалёпуса и кинкажу - пока не находит объяснения. Однако примечательно, что покровы всех упомянутых животных часто соприкасаются с водой. Не говоря уже о бобре и выдре, ведущих полуводный образ жизни, американский крот скалёпус, видовое название которого, кстати, S. aquaticus, красноречиво говорит само за себя, обитает на часто заливаемых полях и лугах. Кинкажу, хотя и живёт на деревьях, но в тропических, дождливых лесах Центральной и Южной Америки. Не исключено, что частое попадание воды на кожу может создавать, в отличие от сухой кожи, благоприятные условия для развития резидентной микрофлоры, для угнетения которой и вырабатывается сквален. Нельзя, конечно, исключать и возможность того, что сквален, как уже было сказано, поддерживает высокий уровень барьерных свойств кожи (надежное сцепление кератиноцитов), что особенно важно для полуводных животных.

### Литература

1. Моррис Д. Голая обезьяна. СПб: Амфора/Эврика; 2001. С.5.
2. Марголина А.А., Эрнандес Э.И. Липидный барьер кожи и косметические средства. (Сер. “Теоретическая косметология”), М: 1998.
3. Сомов Е.Е., Бржеский В.В. Слеза (физиология, методы исследования, клиника). СПб:Наука;1994. С.8-9.
4. Cunliffe W.J., Shuster S. The rate of sebum excretion in man. Brit. J. Derm. 1969;81:697-704.
5. Thody A.J., Schuster S. Control and function of sebaceous glands. Physiol. Rev. 1989, 69: 383-416.
6. Porter A.M.W. Why do we have apocrine and sebaceous glands? Journal of the Royal Society of Medicine 2001; 94: 236-7.
7. Beadle P.C., Burton J.L. Absorption of ultraviolet radiation by skin surface lipid. Br. J. Dermatol. 1981;104(5):549-51.
8. Leyden J.J. New understandigs of the pathogenesis of acne. J. Am Acad. Dermatol. 1995; 32:15-25.
9. Lindholm J.S., McCormick J.M., Colton S.W., Downing D.T. Variation in the chemical composition of human surface skin lipids among mammals. Comp Biochem Physiol 1981; 69B:75-8.
10. Downing D.T., Strauss J.S., Pochi P.E. Variability in the chemical composition of human skin surface lipids. J Invest Dermatol 1969;53:322-7.
11. Schmidt-Nielsen S., Flood A., Stene J. On the size of the liver of some gristly fishes, their content of fat and vitamin A. Kongelige NorskeVidenskabers Selskab Forhandlinger 1934; 7: 47-50.
12. Kelly G.S. Squalene and its potential clinical uses. Altern Med Rev 1999; 4(1): 29-36.
13. Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных: Приспособление и среда. т. 2, М: Мир;1982. с.618.
14. Newmark H.L. Squalene, olive oil, and cancer risk: a review and hypothesis. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 1997;6:1101-3.
15. Saint-Leger D., Bague A., Lefebvre E., Cohen E., Chivot M. A possible role for squalene in the pathogenesis of acne. II. In vivo study of squalene oxides in skin surface and intracomedonal lipids of acne patients. Br J Dermatol 1986;114(5):543-52.
16. Downing D.T., Stewart M.E., Strauss J.S. Estimation of sebum production rates in man by measurement of the squalene content of skin biopsies. Journal of Investigative Dermatology 1981;77(4): 358-60.
17. Kohno Y., Egawa Y., Itoh S., Nagaoka S., Takahashi M., Mukai K. Kinetic study of quenching reaction of singlet oxygen and scavenging reaction of free radical by squalene in n-butanol. Biochem Biophys Acta 1995; 1256:52-6.
18. Thiele J.J., Weber S.U., Packer L. Sebaceous gland secretion is a major physiologic route of vitamin E delivery to skin. Journal of Investigative Dermatology 1999; 113 (6): 1006-10.
19. Ohkido M., Yoshino K., Matsuo I. Lipid peroxide of human skin. Curr Probl Dermatol 1980;10:269-78.
20. Де Люка К. Сквален как акцептор прооксидантных воздействий на кожу человека. Автореферат канд. диссертации. М: РГМУ; 2002.
21. Nicolaides N., Fu H.C., Rice G.R. The skin surface lipids of man compared with those of eighteen species of animals. Journal of Investigative Dermatology 1968; 51:83-9.
22. Nicolaides N. Skin lipids: their biochemical uniqueness. Science 1974;186:19-26.
23. De Luca C., Fanfoni G.B., Picardo M., Nazzaro-Porro M., Passi S. The skin surface lipids of man compared with those of other different primates. Journal of Investigative Dermatology 1989; 92(3):473.
24. Lindholm J.S., Downing D.T. Occurrence of squalene in skin surface lipids of the otter, the beaver and the kinkajou. Lipids 1980; 15:1062-3.
25. Downing D.T., Stewart M.E. Skin surface lipids of the mole Scalopus aquaticus. Comp Biochem Physiol B 1987;86(4):667-70.
26. Morgan E. The Descent of Woman. London: Souvenir Press; 1972.
27. Micali G., Lacarrubba F., Bongu A., West D. The skin barrier. In: Freinkel R.K., Woodley D.T.,editors, The biology of the skin. New-York, London: The Parthenon Publishing Group; 2001, 219-37
28. Picardo M., Passi S., De Luca C., Morrone A., Bartoli F., Ippolito F. Skin surface lipids in patients affected with atopic dermatitis. In: Czernielewski J.M. editor. Immunological and Pharmacological Aspects of Atopic and Contact Eczema. Pharmacology and the Skin 1991; 4: 173-4.
29. Passi S., Picardo M., Morrone A., De Luca C., Ippolito F. Skin Surface lipids in patients HIV sero-positive and HIV sero-negative affected with seborrheic dermatitis. J Dermatol Science 1991; 2: 84-91.