

УДК: 612.015.13 + 612.112.91:537.81

ИНГИБИРОВАНИЕ ПРОТЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭМИ КВЧ

Верко Н. П., Темуриянц Н. А., Чуян Е. Н.

Нейтрофильные гранулоциты обладают целым комплексом протеолитических ферментов, которые локализованы в различных клеточных фракциях - цитоплазме, плазматических мембранах, гранулах [1,6]. С действием нейтрофильных протеаз связаны начало и осуществление различных физиологических процессов. Примером служат такие защитные реакции организма, как гемостаз, фибринолиз, апоптоз, активация системы комплемента и др. [1,8]. Кроме того, чрезмерная протеолитическая активность рассматривается как фактор риска освобождения протеаз из клеток. Вышедшие из клеток энзимы повреждают важные компоненты экстрацеллюлярного матрикса, а также участвуют в разрушении ключевых протеинов плазмы крови (иммуноглобулинов, белков комплемента, факторов свертывания) [1]. Активность секретируемых нейтрофилами протеаз контролируется большим количеством антипротеаз, содержащихся в плазме крови и интерстициальной жидкости [10]. Недостаточная функциональная способность эндогенных ингибиторов протеаз является причиной многих соматических и инфекционных заболеваний, обусловленных развитием стресс-реакции [1,2]. Для нормализации активности протеаз используются фармакологические препараты полифункциональных ингибиторов протеолитических ферментов: гордокс, трасилол, контрикал и др. Указанные препараты быстро выводятся из организма, а также вызывают аллергические реакции [5]. В мире постоянно ведется поиск новых антипротеазных средств. Привлекает внимание исследователей использование физических факторов для защиты организма. Из литературных источников известно, что воздействие низкоинтенсивным электромагнитным излучением (ЭМИ) крайне высокой частоты (КВЧ) благоприятно сказывается на регрессии многих патологических процессов [3], в частности таких, в механизмах которых важную роль играют взаимоотношения протеаз и их ингибиторов. Однако в литературе отсутствуют сведения о физиологических основах многих терапевтических эффектов низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ.

Цель представленной работы заключалась в изучении способности низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ ограничивать протеолитическую активность нейтрофилов периферической крови при развитии в организме животных неспецифической стресс-реакции. Развитие стресс-реакции в организме вызывали путем ограничения двигательной активности животных в специальных клетках-пеналах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа была выполнена на белых беспородных крысах-самцах со средней двигательной активностью и низкой эмоциональностью, определенных в тесте

«открытого поля». Экспериментальные животные были распределены на 4 группы по 20 особей в каждой. Животные первой группы находились в обычных условиях вивария (контроль, К). Вторую группу (ГК) составили крысы, двигательная активность которых ограничивалась в течение 43-х суток путем помещения их в специальные пеналы. К третьей группе (КВЧ) относились животные, которых содержали в обычных условиях вивария и ежедневно подвергали воздействию ЭМИ КВЧ. Крыс четвертой группы (КВЧ+ГК) содержали в условиях гипокинезии и подвергали воздействию ЭМИ КВЧ одновременно с крысами третьей группы (комбинированное воздействие). Воздействие ЭМИ КВЧ осуществляли ежедневно по 30 минут в течение 43-х суток эксперимента на затылочную область животных с помощью одноканального генератора «Луч. КВЧ-01», с длиной волны 7,1 мм и плотностью потока мощности 0,1 мВт/см². Периферическую кровь получали ежедневно в утренние часы в течение 43-х суток путем пункции хвостовой вены.

Цитохимический показатель содержания (ЦПС) протеазы (ПР) в нейтрофилах определяли методом самопереваривания, предложенному Р. Лилли и J. Bartner в модификации А.В. Михайлова [4, 7].

Статистическую обработку материала проводили с помощью параметрического метода: корреляционного анализа. В качестве критерия оценки достоверности наблюдаемых изменений использовали t-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты данного исследования показали, что у животных, подвергавшихся ограничению подвижности, изменения протеазной активности зависели от сроков гипокинезии. Так, в первые 2 недели ограничения двигательной активности ЦПС протеазы резко увеличивался относительно значений в контрольной группе животных, причем значительное его повышение зарегистрировано в 7-и 12-ые сутки (147 % и 150% соответственно, $p < 0,001$). В период с 14-ых по 43-и сутки ЦПС ПР находился ниже значений контрольной группы крыс на 8 – 27 % ($p < 0,01$) (рис. 1). Значительное снижение цитохимического содержания протеаз в нейтрофилах периферической крови во вторую половину экспериментального воздействия стресс-фактора может быть связано с экскрецией этих энзимов в экстрацеллюлярное пространство с последующим разрушением тканей, либо со снижением синтеза фермента, что может стать одним из возможных дефектов фагоцитарной активности нейтрофилов.

Суммируя вышеизложенное, необходимо отметить, что в динамике ПР-активности в условиях гипокинезии прослеживалась четкая фазность изменений: 1-12 сутки - отмечено повышение ЦПС ПР, начиная с 14-ых суток - его снижение относительно контрольных данных.

Протеазная активность у животных, подвергавшихся изолированному воздействию ЭМИ КВЧ в течение 43-х суток, не претерпевала таких резких и значительных изменений, как у гипокинезированных крыс. На протяжении всего периода экспериментального воздействия ЭМИ КВЧ ЦПС ПР повышался в среднем на 7 % ($p < 0,01$) относительно соответствующих значений в контроле. Исключительными явились 12-е и 23-и сутки эксперимента, когда изучаемый

**ИНГИБИРОВАНИЕ ПРОТЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ
НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭМИ КВЧ**

показатель составил 126 % ($148,25 \pm 4,26$ против $117,00 \pm 3,00$ контроля, $p < 0,001$) и 130 % ($203,50 \pm 0,86$ против $146,00 \pm 0,40$ контроля, $p < 0,001$) (рис.1).

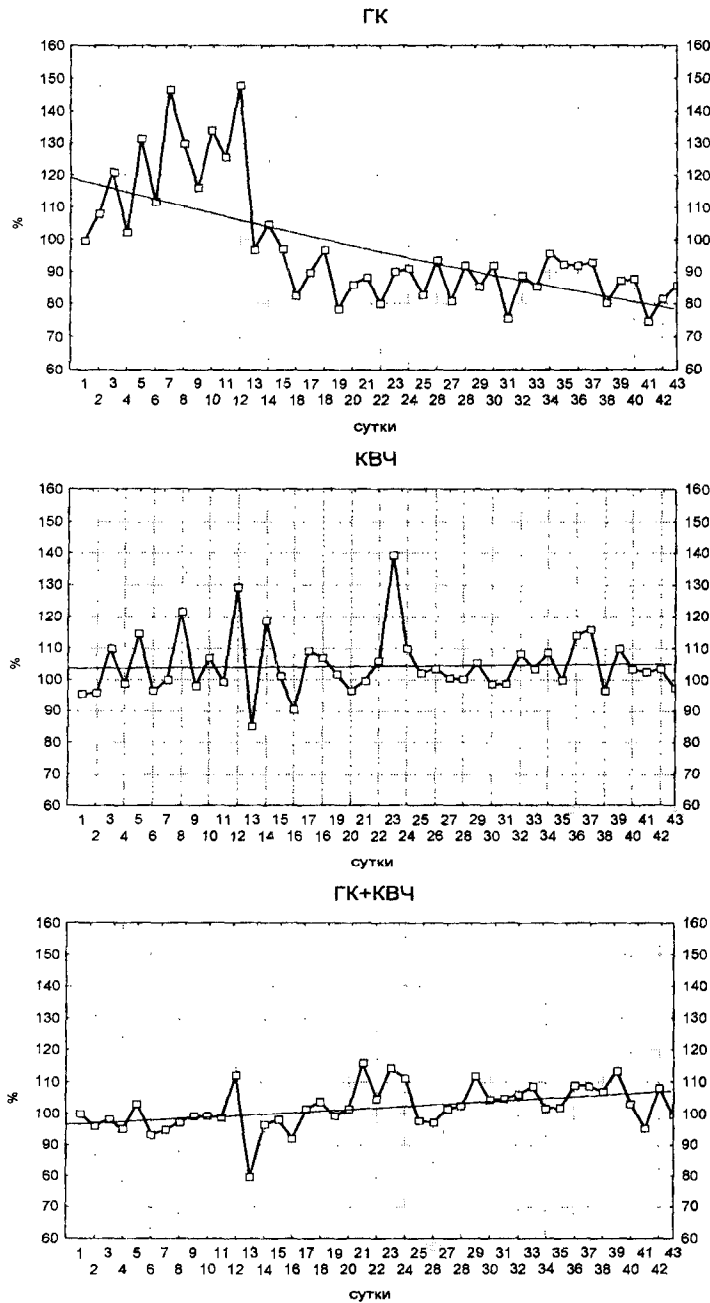


Рис. 1. Динамика протеазной активности в нейтрофилах крови крыс при воздействии гипокинезии (ГК), ЭМИ КВЧ (КВЧ) и их комбинации (ГК+КВЧ) (в % относительно значений контрольной группы).

Анализ результатов исследования показал, что дополнительное воздействие ЭМИ КВЧ в период ограничения двигательной активности нивелировало значительные сдвиги в динамике протеазной активности. ЦПС ПР в течение первых 12-ых суток эксперимента снижался в среднем на 5% относительно контроля за исключением 5- и 12-ых суток, когда этот показатель превышал значения в интактной группе крыс на 3 % и 12% ($p < 0,001$) соответственно (рис. 1). Динамика протеазной активности в течение следующих 3-х недель комбинированного воздействия, в целом, соответствовала таковой у животных, подвергавшихся действию только ЭМИ КВЧ ($r = +0,72$, $p < 0,05$) и противоположной по отношению к гипокинезированным крысам ($r = -0,68$, $p < 0,05$). В подавляющем большинстве случаев ЦПС ПР превышал контрольные данные. Так, минимально низкие значения исследуемого показателя были обнаружены в 13- и 16-ый сроки воздействия: 80% ($134,00 \pm 2,34$ против $168,00 \pm 2,67$ контроля, $p < 0,001$) и 92% ($145,66 \pm 2,33$ против $158,00 \pm 1,15$ контроля, $p < 0,001$) соответственно. Максимально высокие по отношению к контролю значения содержания ПР получены в 21-е (116%, $p < 0,001$) и 23-и (114%, $p < 0,001$) сутки. К концу эксперимента содержание протеазы в нейтрофилах снижалось до уровня контроля.

Результаты приведенного исследования убедительно демонстрируют способность низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ ингибировать протеазную активность нейтрофилов периферической крови, что, по-видимому, является одним из механизмов высокой терапевтической активности этого физического фактора, и этим действием ЭМИ КВЧ можно объяснить его многие физиологические эффекты. Например, благоприятное действие КВЧ-волн на систему гемостаза, регуляцию артериального давления, злокачественный рост, вирусные инфекции [1,9].

Полученные результаты имеют также практическое значение. Из литературных данных известно, что препараты ингибиторов протеаз на украинском фармацевтическом рынке, в основном, импортного производства [2,5]. Поэтому использование низкоинтенсивного ЭМИ КВЧ в качестве ингибитора протеолитической активности в отечественной клинической практике представляется перспективным.

Список литературы

1. Антоняк Г.Л. Роль протеолитических ферментов в функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов // Успехи современной биологии. – 1999. – Т. 119, № 5. – С. 476 – 486.
2. Белоусов Ю.П., Моисеев В.С., Лепяхин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия. – М.: Универсум, 1993. – 397 с.
3. Бецкий О.В. Миллиметровые волны в медицине и биологии // Радиотехника и электроника. – 1993. – Т. 38. – С. 1760 – 1782.
4. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – 645 с.
5. Маслова Н.Ф., Діхтярьов С.І., Січкара Л.А. Сучасний стан застосування інгібіторів протеолітичних ферментів у медицині // Ліки. – 2003. – № 1-2. – С. 22-25.
6. Маянский А.Г., Пикуза Ш.И. Клинические аспекты фагоцитоза. – Казань, 1993. – 287 с.
7. Михайлов А.В. Функциональная морфология нейтрофилов крови крыс в процессе адаптации к гипокинезии: Автореф. дис... канд. мед. наук: 14.00.23 / Крым. Мед. ин-т. – Симферополь, 1986. – 25 с.

**ИНГИБИРОВАНИЕ ПРОТЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ КРОВИ ПРИ ДЕЙСТВИИ
НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЭМИ КВЧ**

8. Сологуб Л.И., Пашковская И.С., Антоняк Г.Л. Протеазы клеток и их функции. - К.: Наукова думка, 1992. – 195 с.
9. Чирський М.В. Модифікація неспецифічних адапційних реакцій за допомогою низькоінтенсивного електромагнітного випромінювання надто високої частоти: Автореф. дис... канд. біол.наук. – Сімферополь, 2003. – 22 с.
10. Travis J. // Amer. J. Med. – 1988. – V. 84, № 6A. – P. 37

Поступила в редакцію 18.12.2003 г.