



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **20822** (13) **U**
(51) МПК (2006)
A61N 2/00МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ ПОРУШЕНЬ У СИСТЕМІ ПРОТЕОЛІТИЧНИХ ФЕРМЕНТІВ І ЇХНІХ ІНГІБІТОРІВ**

1

2

(21) u200608924

(22) 10.08.2006

(24) 15.02.2007

(46) 15.02.2007, Бюл. № 2, 2007 р.

(72) Харченко Володимир Захарович, Пальона
Юлія Володимирівна, Чуян Олена Миколаївна,
Темур'янц Наталія Арменаківна(73) ТАВРІЙСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИ-
ТЕТ ІМ. В.І.ВЕРНАДСЬКОГО

(57) Спосіб корекції порушень у системі протеолітичних ферментів і їхніх інгібіторів, що включає вплив на організм електромагнітного випромінювання надвисокої частоти з довжиною хвилі 7,1 мм і щільністю потоку потужності $0,1 \text{ мВт/см}^2$ в зоні потилично-комірцевої зони щодня по 30 хвилин, який відрізняється тим, що вплив здійснюють протягом 9 днів, після чого тварин опромінують іонізуючим випромінюванням у дозі 6 Гр.

Корисна модель ставиться до області фізіології й медицини, а саме до способів корекції порушень у системі протеолітичних ферментів і їхніх інгібіторів при дії гамма-випромінювання й може бути використана в променевій терапії злоякісних новоутворів, а також у медицині екстремальних станів.

Як прототип був обраний спосіб обмеження протеолітичної активності нейтрофілів [Патент на винахід № 68559, МПК7: A61N2/00 публ. 16.08.04, бюл. №8. /Чуян О. М., Темур'янц Н. А., Верко Н. П. Спосіб обмеження протеолітичної активності нейтрофілів], що включає вплив на тварин електромагнітних випромінювань (ЕМВ) надто високої частоти (НВЧ) з довжиною хвилі 7,1 мм і щільністю потоку потужності $0,1 \text{ мВт/см}^2$ щодня по 30 хвилин на потилично-комірцеву зону тварини протягом 12-43 доби з наступним визначенням змін в активності протеолітичних ферментів.

Недоліком прототипу є: недостатня інформативність у зв'язку з тим, що в прототипі протеазну активність нейтрофілів оцінювали шляхом підрахунку цитохімічного показника змісту зруйнованих нейтрофілів по методу самопереварювання, що не дає інформації про специфічність ферментів протеолізу й не диференціює їх. Цитохімічні методи визначення змісту показників у біологічних рідинах - трудомісткий процес і не може бути повною мірою використаний у клініці на відміну від пропонованих нами біохімічних методів дослідження.

В основу корисної моделі поставлене завдання вдосконалення способу обмеження протеолітичної активності нейтрофілів шляхом визначення

активності протеолітичних ферментів, їхніх інгібіторів і рівня ендогенної інтоксикації в сироватці крові з використанням біохімічних методик, що дозволяє вчасно й комплексно оцінити не тільки ступінь порушень метаболізму в результаті ушкодження при дії іонізуючого випромінювання, але й, застосовуючи ЕМВ НВЧ, досягти бажаного результату й зменшити дію, що ушкоджує.

Поставлене завдання вирішується тим, що в способі корекції порушень у системі протеолітичних ферментів і їхніх інгібіторів, що включає вплив на організм електромагнітного випромінювання надвисокої частоти з довжиною хвилі 7,1 мм і щільністю потоку потужності $0,1 \text{ мВт/см}^2$ в зоні потилично-комірцевої зони щодня по 30 хвилин, відповідно до корисної моделі, вплив здійснюють протягом 9 днів, після чого тварин опромінують іонізуючим випромінюванням у дозі 6 Гр.

Використання впливу на живі організми ЕМВ НВЧ протягом 9-ти днів приводило до зниження активності протеолітичних ферментів, підвищенню активності їхніх інгібіторів і, як наслідок, зниженню рівня ендогенної інтоксикації не тільки при одномоментній дії ЕМВ, але й при сполученим впливі з гамма-випромінюванням. При цьому попередній вплив ЕМВ приводило до зниження дії, що ушкоджує, іонізуючого випромінювання, що проявлялося менш вираженими змінами в протеаз-інгібіторній системі. Даний ефект є одним з механізмів високої терапевтичної активності ЕМВ НВЧ. Цією дією можна пояснити різноманітні фізіологічні ефекти ЕМВ НВЧ: сприятливий вплив на систему гемостазу, нормалізацію артеріального тиску, при-

(19) **UA** (11) **20822** (13) **U**

душення росту злоякісних пухлин, вірусних інфекцій, у механізмах розвитку яких важливу роль грають взаємодії між протеазами і їхніми інгібіторами.

Спосіб корекції порушень у системі протеолітичних ферментів і їхніх інгібіторів здійснюють таким чином.

Для дослідження були відібрані паціюки-самці масою 180-220 г. (n = 36). Моделювання дії ЕМВ НВЧ проводили за допомогою генератора «Промінь KBЧ-071» з довжиною хвилі 7,1 мм, щільністю потоку потужності опромінення 10 мВт/см², час впливу 30 хвилин щодня на потилично-комірцеву зону протягом 9 днів. Для моделювання дії іонізуючого випромінювання паціюки піддавалися дії однократного тотального гамма-випромінювання потужністю 11,55 м³В/сек. у дозі 6 Гр із використанням установки «АГАТ-Р-1» протягом 580 секунд. Дія ЕМВ НВЧ передувало гамма-випромінюванню.

Кров одержували шляхом декапітації під легким ефірним наркозом з наступним виділенням сироватки. Забір крові проводили на 9 день після дії ЕМВ НВЧ і через 3 дні після послідовної дії ЕМВ НВЧ і іонізуючого випромінювання, тому що в цей день за результатами попередніх досліджень були зареєстровані найбільш виражені зміни досліджуваних показників у сироватці крові при ізолюванні дії гамма-випромінювання.

Трипсиноподібну активність (ТЛА) і рівень альфа-1-інгібітору протеїназ визначали з використанням синтетичного субстрату БАЭЭ - етилового ефіру М-бензоіл-Ь-аргініна фірми «Reanal», а визначення рівня ендогенної інтоксикації в сироватці крові проводили шляхом визначення концентрації її маркерів - середньомолекулярних олігопептидів (СМО) за допомогою спектрофотометра «Biomate 5» (Німеччина).

Даний спосіб був випробуваний на 36 паціюках. Його ефективність підтверджувалася біохімічними змінами сироватки крові.

У таблиці 1 наведені дані по зміні активності протеолітичних ферментів, рівня альфа-1-інгібітору протеїназ і концентрації середньомолекулярних олігопептидів у сироватці крові.

Аналіз показників протеазо-інгібіторної системи показав, що гамма-випромінювання в дозі 6 Гр приводить до значної активації протеолітичних ферментів і падінню активності їхнього інгібітору. Дані зміни відбуваються на тлі вираженого ендотоксикоза. Рівень середньомолекулярних олігопептидів на 3 добу після дії іонізуючого випромінювання на 159,24% (p<0,01) перевищував значення вивчених показників у контрольній групі тварин.

Дія ЕМВ НВЧ приводило до падіння рівня протеолітичних ферментів у сироватці крові. Так, трипсиноподібна активність знижувалася на 28,44% (p<0,01) щодо значень у контрольній групі. Активність альфа-1-інгібітору протеїназ також знижувалася на 16,17% (p<0,05). Рівень середньомолекулярних олігопептидів при даному виді впливу мав тенденцію до зниження.

Превентивна дія ЕМВ НВЧ перед однократним гамма-випромінюванням привело до наступних змін. Трипсиноподібна активність значно знижувалася (на 46,65%, p<0,01) щодо показників, зареєстрованих при ізолюванні дії іонізуючого випромінювання й наближалася до значення цього показника в контрольній групі паціюків. Подібні зміни зареєстровані й для еластазоподібної активності сироватки крові. При цьому рівень інгібітору протеолітичних ферментів збільшувався й на 17,07% (p<0,01) перевищував контрольні значення. При цьому концентрація середньомолекулярних олігопептидів була вірогідно вище контрольних значень на 31,25% (p<0,01), але при самостійній дії гамма-випромінювання даний показник на 159,24% (p<0,01) перевищував показники, зареєстровані в здорових тварин.

Таблиця 1

Зміни трипсиноподібної і еластазоподібної активності, рівня альфа-1-інгібітору протеїназ і концентрації середньомолекулярних олігопептидів у сироватці крові паціюків

Показники Групи тварин			Трипсино- подібна Ак- тивність (мкмоль/мл хвил.)	Еластазо-подібна Активність (нм/мол хвил.)	Рівень альфа-1- інгібітору Протеїназ (ІЕ/мл)	Концентрація середньомолекуляр- них Олігопептидів (ум.од.)
1.	Контроль (n=12)	M ± m	0,211±0,010	241,55±2,67	46,68±1,79	0,368±0,018
2.	НВЧ (n=6)	M ± m	0,151±0,003 p _{1,2} <0,01	266,22±1,58 p _{1,2} <0,01	39,13±2,55 p _{1,2} <0,05	0,343±0,017
3.	НВЧ+гамма- випромінювання (n=6)	M ± m	0,199±0,003	287,03±8,05 p _{1,3} <0,01	54,65±2,52 p _{1,3} <0,05	0,483±0,024 p _{1,3} <0,01
4.	Гамма- випромінювання (n=12)	M ± m	0,373±0,019 p _{1,4} <0,01 p _{3,4} <0,01	303,14±21,23 p _{1,4} <0,01	39,23±1,93 p _{1,4} <0,05 p _{3,4} <0,01	0,954±0,047 p _{1,4} <0,01 p _{3,4} <0,01

Примітка: p - вірогідність розходжень між досліджуваними групами.

При порівнянні змін показників у груп тварин з ізольованою дією гамма-випромінювання й із превентивним впливом ЕМВ НВЧ отримані наступні результати. У сироватці крові тварин, підданих комбінованому впливу ЕМВ НВЧ і гамма-випромінювання активність трипсиноподібних і еластазоподібних ферментів, а також концентрація середньомолекулярних олігопептидів знижувалася на 46,65% ($p < 0,01$), 8,28% ($p > 0,05$) і 49,37% ($p < 0,01$), відповідно. При цьому рівень альфа-1-інгібітору протеїназ зростав на 39,31% ($p < 0,05$) у порівнянні з показниками, за системи протеолітичних ферментів і їхніх інгібіторів.

реєстрованими у тварин, що піддавалися ізольованій дії гамма-випромінювання.

При використанні даного способу встановлене зниження дії, що ушкоджує, іонізуючого випромінювання в дозі 6 Гр на молекулярному рівні, що підтверджується менш вираженими змінами в роботі протеазо-інгібіторної системи й значним зниженням рівня ендотоксикоза в сироватці крові тварин.

Запропонований спосіб лікування метаболічних порушень при дії іонізуючого випромінювання ефективно коригує порушення, що виникають у