

Винахід відноситься до області біофізики, однієї з актуальних проблем якої є поглиблення представлень про механізми дії на живий організм фізичних факторів, у тому числі електромагнітних випромінювань (ЕМВ) різного діапазону, і може бути використано як інгібітор протеолітичної активності нейтрофілів.

Відомо, що протеолітичні ферменти відіграють важливу роль у забезпеченні функціональної активності клітин. Зокрема, вони обумовлюють їхню здатність до міграції, фагоцитозу, участі в імунній і запальній реакції [Антоняк Г.Л. Роль протеолитических ферментов в функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов // Успехи современной биологии. - 1999. - Т.119. - №5. - С.476-486]. Надмірна протеолітична активність розглядається як фактор ризику звільнення протеаз із клітин і вихід їх у тканину. Ця обставина є причиною багатьох патологічних процесів, обумовлених розвитком стрес-реакції. Установлено, що розпад лейкоцитів не є обов'язковою умовою для виходу протеаз у тканини, тому що ензими можуть надходити в тканини й у результаті екзоцитоза [Сологуб Л.И., Пашковская И.С., Антоняк Г.Л. Протеазы клеток и их функции. - Київ: Наук. думка, 1992. - 195 с.]. Стимулом для цього процесу можуть служити, зокрема, імунологічні комплекси антиген-антитіло, інфекційно-запальні процеси, вплив сигаретного диму, деяких видів пилу й ін. [Travis J. // Amer. J. Med. - 1988. - V.88. - Suppl. - №6A. - P.37]. Інгібіторами протеолітичної активності є ряд білків плазми крові, ексудата, синовіальної рідини: α_1 - і α_2 -антітрипсин, α_1 -антіхемотрипсин, інтер- α -трипсин-інгібітор, α і β -інгібітори тілових протеїназ та ін. [Антоняк Г.Л. Роль протеолитических ферментов в функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов // Успехи современной биологии. - 1999. - Т.119. - №5. - С.476-486]. Недостатня функціональна здатність інгібіторів може бути причиною ряду патологічних порушень унаслідок надмірної активації протеолізу. Для нормалізації активності протеаз використовуються препарати поліфункціональних інгібіторів протеолітичних ферментів: гордокс, трасилол, контрикал і т.д.

Аналогами передбачуваного винаходу є способи нормалізації активності протеаз за допомогою поліфункціональних інгібіторів протеолітичних ферментів: гордокс, трасилол, контрикал, зимокрен і т.д.

Недоліком зазначених препаратів є те, що вони швидко виводяться з організму, мають побічні ефекти і часто виявляються важкодоступними.

Прототипом винаходу є спосіб профілактики і корекції стресу за допомогою ЕМВ НВЧ [Патент на винахід №53128-А, МПК7: А61N2/00, публ. 15.01.03, бюл. №1. / Темур'янц Н.А., Чуян О.М., Верко Н.П., Шишко О.Ю. Спосіб профілактики і корекції стресу.], що включає вплив на живі організми за допомогою ЕМВ НВЧ, на область голови, протягом 9 днів до дії стрес-фактора. Здатність, що стрес-лімітує, ЕМВ НВЧ була виявлена в 9-тиденних дослідженнях, однак, така тривалість експериментів не дозволила вірогідно зафіксувати протеазінгібуючу дію ЕМВ НВЧ. Тому для підтвердження здатності низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ обмежувати протеолітичну активність нейтрофілів були проведені тривалі (43 доби) експерименти.

У зв'язку з цим задачею дійсного винаходу з'явилося створення ефективного способу корекції стресу за допомогою впливу ЕМВ НВЧ з обліком його протеазінгібуючої здатності.

Сутність винаходу полягає в тому, що обмеження протеолітичної активності нейтрофілів, що виникає при розвитку стрес-реакції, включає щоденний 30-хвилинний вплив на організм низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ (довжина хвилі 7,1мм, щільність потоку потужності $\approx 0,1 \text{ мВт/см}^2$) тривалістю від 12 до 43 доби одночасно з впливом стрес-факторів на потилично-комірцеву зону. Спосіб, що заявляється, відрізняється високою ефективністю і відсутністю побічних ефектів.

Причинно-наслідковий зв'язок між істотними ознаками винаходу і результатом, що досягається, імовірно, такий. ЕМВ НВЧ інгібує протеазну активність нейтрофілів, що, очевидно, є одним з механізмів його високої терапевтичної активності. Цією дією ЕМВ НВЧ можна пояснити його багаті фізіологічні ефекти: зокрема, сприятливу дію на систему гемостазу, нормалізацію артеріального тиску, придушення росту злоякісних пухлин, вірусних інфекцій, у механізмах яких важливу роль грають взаємини протеаз і їхніх інгібіторів.

На практиці реалізація винаходу здійснюється в такий спосіб.

Для експериментів відбирали щурів-самців однакової ваги та віку, які характеризуються середньою активністю в тесті "відкритого поля". Подібний добір дозволив сформувати однорідні групи тварин з однаковими конституціональними особливостями, що однаково реагують на дію різних факторів. У повторних досвідах усіх тварин розподіляли на 4 рівноцінні групи по 10-12 осіб у кожній. До першої групи відносилися тварини, що містяться в звичайних умовах віварію (біологічний контроль). Другу групу складали тварини, що містяться в умовах стрес-реакції. Стрес-реакція моделювалася гіпокінезією (ГК), тобто розташуванням щурів у спеціальні касети з оргскла, що обмежують їхні рухи у всіх напрямках, у яких щури знаходилися 23 години на добу. В умовах ГК тварини знаходилися протягом 43 діб. Тварини третьої групи піддавалися дії ЕМВ НВЧ за допомогою генератора "Промінь КВЧ-071" з довжиною хвилі 7,1мм, щільністю потоку потужності $0,1 \text{ мВт/см}^2$. Вплив здійснювався систематично протягом 30 хвилин на потилично-комірцеву зону протягом 43 діб. Четверту групу склали щури, що знаходилися в умовах ГК і піддавалися впливу ЕМВ НВЧ.

Периферійну кров одержували щодня протягом 43-х діб шляхом пункції хвостової вени.

Протеазну активність нейтрофілів визначали за методом самопереварювання, запропонованому Ліллі і Бартнером (1969) у модифікації А.М. Михайлова (1985). Кількісну оцінку досліджуваного показника робили відповідно до принципу Karlow (1955), на підставі розрахунку цитохімічного показника змісту (ЦПЗ) у розрахунку на 100 нейтрофілів.

Обробку й аналіз експериментальних даних проводили за допомогою параметричних і непараметричних методів. Як критерій оцінки вірогідності змін, що спостерігаються, використовували найбільше широко застосовуваний у дослідженнях такого роду t-критерій Стюдента. Обробка результатів вироблялася на ПК по стандартних статистичних програмах.

Результати проведених досліджень свідчать про те, що гіпокінезія приводила до підвищення протеазної активності до 40% щодо контрольної групи тварин протягом 12 доби експерименту (табл.). Ізольована дія ЕМВ НВЧ оптимізувала протеазну активність нейтрофілів. Комбінована дія гіпокінезії і низькоінтенсивного ЕМВ НВЧ інгібує протеазну активність нейтрофілів, про що свідчить зниження ЦПЗ протеази нейтрофілів щодо значень цього показника у тварин з обмеженою рухливістю, що додатково не піддавалися НВЧ-впливу. Причому, значення цього показника наближалися до таким у контрольних тварин.

Переважа винаходу полягає в тім, що вперше показана здатність ЕМВ НВЧ обмежувати протеолітичну активність нейтрофілів як при ізольованому, так і при комбінованому з гіпокінетичним стресом дії ЕМВ НВЧ. Ефективність впливу відзначається вже з перших сеансів і зберігається протягом тривалого часу.

Таблиця

Динаміка протеазної активності в нейтрофілах у крові інтактних пацієнтів (ДО),
при гіпокінезії (ГК), ЕМВ КВЧ (КВЧ) і їхньої комбінації (КВЧ+ГК) ($\bar{X} \pm S\bar{X}$)

| Доба | Групи | | | |
|------|-------------|--|--|---|
| | К(1) | ГК(2) | КВЧ(3) | ГК+КВЧ(4) |
| 1 | 145,00±2,50 | 144,50±2,62 | 138,40±2,63 | 145,20±3,65 |
| 2 | 149,00±1,00 | 160,83±3,58 p _{1,2} <0,05 p _{2,3} <0,02 p _{2,4} <0,01 | 142,75±4,76 p _{2,3} <0,02 | 143,20±1,24 p _{1,4} <0,001 p _{2,4} <0,01 |
| 3 | 134,83±2,52 | 163,20±2,47 p _{1,2} <0,001 p _{2,3} <0,01 p _{2,4} <0,001 | 148,20±2,88 p _{1,3} <0,01 p _{2,3} <0,01 p _{2,4} <0,001 | 132,33±3,48 p _{2,4} <0,001 p _{3,4} <0,01 |
| 4 | 128,80±2,83 | 131,60±1,80 p _{2,4} <0,02 | 127,00±2,38 | 122,50±2,50 p _{1,4} <0,05 p _{2,4} <0,02 |
| 5 | 131,66±2,43 | 173,00±1,37 p _{1,2} <0,001 p _{2,3} <0,01 p _{2,4} <0,001 | 150,75±3,09 p _{1,3} <0,001 p _{2,3} <0,001 p _{3,4} <0,001 | 136,00±1,04 p _{1,4} <0,01 p _{2,4} <0,001 p _{3,4} <0,001 |
| 6 | 119,80±2,37 | 133,75±3,47 p _{1,2} <0,01 p _{2,3} <0,01 p _{2,4} <0,001 | 115,50±3,52 p _{2,3} <0,01 | 112,00±3,06 p _{1,4} <0,05 p _{2,4} <0,001 |
| 7 | 119,33±2,61 | 175,00±3,89 p _{1,2} <0,001 p _{2,3} <0,001 | 119,50±2,90 p _{2,3} <0,001 | 113,25±2,09 p _{2,4} <0,001 |
| 8 | 125,00±3,17 | 162,5±3,96 p _{1,2} <0,001 p _{2,3} <0,05 p _{2,4} <0,001 | 152,00±1,91 p _{1,3} <0,001 p _{2,3} <0,05 p _{3,4} <0,001 | 121,50±3,12 p _{2,4} <0,001 p _{3,4} <0,001 |
| 9 | 131,75±3,01 | 153,00±3,63 p _{1,2} <0,01 p _{2,3} <0,001 p _{2,4} <0,01 | 129,33±1,76 p _{2,3} <0,001 | 130,80±3,55 p _{2,4} <0,01 |
| 10 | 131,50±3,01 | 176,00±2,09 p _{1,2} <0,001 p _{2,3} <0,001 p _{2,4} <0,001 | 140,60±3,65 p _{2,3} <0,001 | 130,66±1,76 p _{2,4} <0,001 |
| 11 | 129,20±0,48 | 162,25±1,03 p _{1,2} <0,001 p _{2,3} <0,001 p _{2,4} <0,001 | 128,33±1,56 p _{2,3} <0,001 | 127,60±2,15 p _{2,4} <0,001 |
| 12 | 117,00±3,00 | 173,00±3,48 p _{1,2} <0,001 p _{2,3} <0,01 p _{2,4} <0,05 | 151,25±4,26 p _{1,3} <0,001 p _{2,3} <0,01 p _{3,4} <0,01 | 131,20±3,78 p _{1,4} <0,001 p _{2,4} <0,05 p _{3,4} <0,01 |
| 13 | 168,00±2,67 | 162,66±3,17 p _{2,3} <0,001 p _{2,4} <0,001 | 142,80±1,39 p _{1,3} <0,001 p _{2,3} <0,001 p _{3,4} <0,01 | 134,00±2,34 p _{1,4} <0,001 p _{2,4} <0,001 p _{3,4} <0,01 |
| 14 | 143,50±2,21 | 150,50±3,09 p _{2,3} <0,001 p _{2,4} <0,001 | 170,33±2,02 p _{1,3} <0,001 p _{2,3} <0,001 p _{3,4} <0,001 | 138,33±1,85 p _{1,4} <0,05 p _{2,4} <0,001 p _{3,4} <0,001 |
| 15 | 138,00±1,76 | 134,00±0,57 | 139,66±3,17 | 135,33±2,40 |
| 16 | 158,00±1,15 | 130,33±2,60 p _{1,2} <0,001 p _{2,3} <0,001 p _{2,4} <0,01 | 142,75±2,49 p _{1,3} <0,001 p _{2,3} <0,01 | 145,66±2,33 p _{1,4} <0,001 p _{2,4} <0,01 |
| 17 | 143,40±1,98 | 129,00±2,12 | 156,50±3,96 | 145,60±3,35 |

| | | | | |
|----|-------------|--|--|--|
| | | $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,01$ $p_{2,4}<0,01$ | $p_{1,3}<0,02$ $p_{2,3}<0,01$ | $p_{2,4}<0,01$ $p_{3,4}<0,01$ |
| 18 | 131,00±2,64 | 126,66±1,76 $p_{2,3}<0,01$ | 140,33±3,17 $p_{1,3}<0,05$ $p_{2,3}<0,01$ | 136,00±4,50 $p_{1,4}<0,001$ $p_{2,4}<0,01$ |
| 19 | 158,66±2,18 | 124,33±1,76 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ | 161,83±2,46 $p_{2,3}<0,001$ | 157,50±2,84 $p_{2,4}<0,001$ |
| 20 | 151,50±1,75 | 130,50±0,95 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ | 146,25±2,32 $p_{2,3}<0,001$ | 153,80±3,48 $p_{2,4}<0,001$ |
| 21 | 145,75±2,01 | 128,50±2,53 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,01$ | 145,40±3,66 $p_{2,3}<0,001$ $p_{3,4}<0,01$ | 168,80±2,13 $p_{1,4}<0,001$ $p_{2,4}<0,01$ |
| 22 | 163,00±0,91 | 130,50±1,65 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ | 172,60±1,16 $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ | 170,66±1,85 $p_{1,4}<0,05$ $p_{2,4}<0,001$ |
| 23 | 146,00±0,40 | 131,66±0,88 $p_{1,2}<0,01$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ | 203,50±0,86 $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ | 166,80±1,24 $p_{1,4}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ |
| 24 | 156,00±1,37 | 142,00±3,34 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ | 171,20±0,73 $p_{1,3}<0,01$ $p_{2,3}<0,001$ | 173,50±1,19 $p_{1,4}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ |
| 25 | 174,00±1,22 | 144,25±1,70 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,01$ | 177,80±1,71 $p_{2,3}<0,001$ | 170,25±1,25 $p_{2,4}<0,01$ |
| 26 | 161,75±0,47 | 151,50±2,06 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ | 167,66±2,40 $p_{2,3}<0,001$ | 157,00±1,52 |
| 27 | 168,40±0,60 | 136,50±0,86 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ | 169,60±1,20 $p_{2,3}<0,001$ | 171,00±0,57 $p_{2,4}<0,001$ |
| 28 | 162,00±0,96 | 149,33±0,33 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ | 162,50±1,04 $p_{1,3}<0,02$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{3,4}<0,05$ | 166,00±1,76 $p_{2,4}<0,001$ $p_{3,4}<0,05$ |
| 29 | 151,40±0,81 | 129,33±1,20 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ | 159,66±2,44 $p_{2,3}<0,001$ $p_{3,4}<0,05$ | 169,40±1,60 $p_{1,4}<0,01$ $p_{2,4}<0,001$ $p_{3,4}<0,05$ |
| 30 | 167,00±1,15 | 154,00±0,57 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ | 164,75±1,31 $p_{2,3}<0,001$ $p_{3,4}<0,01$ | 174,33±2,02 $p_{1,4}<0,01$ $p_{2,4}<0,001$ $p_{3,4}<0,01$ |
| 31 | 162,80±2,03 | 123,00±2,00 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ | 160,80±1,88 $p_{2,3}<0,001$ $p_{3,4}<0,01$ | 170,60±2,13 $p_{1,4}<0,05$ $p_{2,4}<0,001$ $p_{3,4}<0,01$ |
| 32 | 150,00±1,67 | 133,25±0,75 $p_{1,2}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,001$ | 162,25±1,10 $p_{1,3}<0,02$ $p_{2,3}<0,001$ | 159,25±1,10 $p_{1,4}<0,05$ $p_{2,4}<0,001$ |
| 33 | 160,75±1,65 | 137,33±1,33 $p_{1,2}<0,05$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{2,4}<0,01$ | 166,50±1,19 $p_{1,3}<0,05$ $p_{2,3}<0,001$ $p_{3,4}<0,01$ | 174,33±1,85 $p_{1,4}<0,01$ $p_{2,4}<0,01$ $p_{3,4}<0,01$ |
| 34 | 154,00±1,30 | 147,75±2,49 $p_{1,2}<0,01$ $p_{2,3}<0,001$ | 167,00±2,30 $p_{1,3}<0,001$ $p_{2,3}<0,001$ | 156,60±1,02 $p_{2,4}<0,001$ |

| | | | | |
|----|-------------|--|---|---|
| | | $p_{2,4} < 0,001$ | | |
| 35 | 153,40±2,06 | 141,66±1,20 $p_{1,2} < 0,05$ $p_{2,3} < 0,001$ $p_{2,4} < 0,001$ | 153,33±1,52 $p_{2,3} < 0,001$ | 156,25±2,09 $p_{2,4} < 0,001$ |
| 36 | 137,33±3,66 | 126,33±1,85 $p_{1,2} < 0,05$ $p_{2,3} < 0,001$ $p_{2,4} < 0,001$ | 156,66±0,66 $p_{1,3} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$ $p_{3,4} < 0,05$ | 149,75±3,56 $p_{1,4} < 0,001$ $p_{2,4} < 0,001$ $p_{3,4} < 0,05$ |
| 37 | 134,75±2,49 | 125,33±2,18 $p_{1,2} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$ $p_{2,4} < 0,001$ | 156,25±3,72 $p_{1,3} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$ $p_{3,4} < 0,05$ | 146,50±2,10 $p_{1,4} < 0,01$ $p_{2,4} < 0,001$ $p_{3,4} < 0,05$ |
| 38 | 157,00±3,05 | 126,00±2,30 $p_{1,2} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$ $p_{2,4} < 0,001$ | 151,50±2,72 $p_{1,3} < 0,05$ $p_{2,3} < 0,001$ | 168,00±1,15 $p_{1,4} < 0,001$ $p_{2,4} < 0,001$ $p_{3,4} < 0,01$ |
| 39 | 142,60±1,56 | 124,33±2,18 $p_{1,2} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$ $p_{2,4} < 0,001$ | 156,50±2,81 $p_{2,3} < 0,001$ | 161,75±2,65 $p_{1,4} < 0,01$ $p_{2,4} < 0,001$ |
| 40 | 136,00±1,76 | 119,50±2,62 $p_{1,2} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$ $p_{2,4} < 0,001$ | 140,60±1,43 $p_{2,3} < 0,001$ | 140,33±3,75 $p_{2,4} < 0,001$ |
| 41 | 160,50±2,07 | 120,00±0,57 $p_{1,2} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$ $p_{2,4} < 0,001$ | 164,50±1,87 $p_{2,3} < 0,001$ | 153,00±2,00 $p_{1,4} < 0,05$ $p_{2,4} < 0,001$ |
| 42 | 142,60±2,52 | 116,33±1,66 $p_{1,2} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$ $p_{2,4} < 0,001$ | 147,75±2,39 $p_{2,3} < 0,001$ | 154,00±3,85 $p_{2,4} < 0,001$ |
| 43 | 143,40±2,50 | 123,00±2,51 $p_{1,2} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,001$ $p_{2,4} < 0,001$ | 139,75±1,10 $p_{2,3} < 0,001$ | 143,00±2,64 $p_{2,4} < 0,001$ |

P_{1-4} - достовірність розходжень при порівнянні з даними груп, позначених в таблиці 1-4 відповідно за критерієм Ст'юдента.