

# ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СИСТЕМНОЙ ЭНЗИМОТЕРАПИИ НА ЦИТОКИНОВУЮ РЕГУЛЯЦИЮ ПРОЦЕССОВ АДАПТАЦИИ ЖИВОТНЫХ К ИНТЕНСИВНЫМ ФИЗИЧЕСКИМ НАГРУЗКАМ

Стернин Ю.И., Мазуров В.И., Кнорринг Г.Ю., Трофимов Е.В.

Санкт-Петербургская медицинская академия последипломного образования, Санкт-Петербург

**Резюме.** Для изучения влияния системной энзимотерапии на работоспособность и переносимость интенсивной физической нагрузки, а также влияния ее на продукцию основных цитокинов экспериментальным животным (45 беспородных белых мышей) вводили препараты системной энзимотерапии. Группу сравнения составили 45 мышей, получавших плацебо. Физическую работоспособность оценивали на 1, 2 и 3 неделях по длительности тест-плавания животных в аквариуме с грузом, составляющим 5% от массы тела. Применение системной энзимотерапии приводило к повышению работоспособности и переносимости интенсивной физической нагрузки у экспериментальных животных, значимый эффект реализовывался через 3 недели от начала назначения препарата. В опытной группе животных отмечалось снижение уровня провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , остальные изменения не выходили за рамки статистически достоверных.

**Ключевые слова:** интенсивная физическая нагрузка, эксперимент, физическая работоспособность, системная энзимотерапия, вобэнзим, цитокины.

*Sternin Y.I., Mazurov V.I., Knorring G.Y., Trofimov E.A.*

## ASSESSMENT OF THE INFLUENCE OF SYSTEMIC ENZYME THERAPY ON CYTOKINE REGULATION OF ANIMAL ADAPTATION PROCESSES TO INTENSIVE PHYSICAL EXERCISE

**Abstract.** An experimental group of 45 nondescript white mice was selected for a study of the influence of systemic enzyme therapy on performance and ability to withstand intensive physical loads, as well as on production of main cytokines. The findings were compared to a control group of 45 mice who received placebo. The physical performance was assessed after 1, 2, and 3 weeks according to the length of test swimming in the aquarium with the attached load of 5% of the body mass. Findings indicate that systemic enzyme therapy led to increased performance and endurance with increased physical load in the experimental group after three weeks of therapy. The mice in the experimental group showed decreased levels of anti-inflammatory TNF $\alpha$  and IL-1 $\beta$ . Other observed changes were within the error range. (*Med. Immunol., vol. 10, N 6, pp 577-582*)

## Введение

За последние годы в сфере физической культуры и спорта произошли существенные изменения, что в первую очередь коснулось такого нового социального явления, как профессиональный

коммерческий спорт. Адаптация тренировочного процесса к графику соревнований и формирование подготовки для достижения рекордных результатов в коммерческих стартах требует современной врачебной оценки медико-биологического обеспечения коммерческого спорта высших достижений [3, 20, 21]. Все это связано с частыми стрессорными и психоэмоциональными воздействиями спортивной деятельности, что может приводить к возникновению

**Адрес для переписки:**

Кнорринг Герман

Тел. моб.: 8-921-969-95-51.

E-mail: knorring@mail.ru

травм, спортивных повреждений, срывов механизмов адаптации у спортсменов и возникновению адаптогенной патологии [4, 12, 13, 17, 18].

В условиях физических и психоэмоциональных нагрузок, сопутствующих профессиональной спортивной деятельности, может наблюдаться срыв механизмов адаптации и вступление организма спортсмена в период повышенного иммунологического риска [15, 17, 19].

Исследования, проведенные группой авторов в 1996-2003 гг. во ВНИИФК, показали, что срыв нормального хода адаптации к запредельным спортивным нагрузкам приводит к возникновению синдрома срочной дезадаптации, проявляющийся в системных нарушениях регуляции основных систем защиты [14, 15, 19].

Актуальность и значимость изучения проблем повышения порога физической работоспособности, процессов адаптации к предельно переносимым нагрузкам и предотвращения срыва резерва адаптации послужило поводом для проведения настоящего экспериментального исследования, где оценивали влияние системного полиэнзимного препарата («Вобэнзим», «Мукос Фарма», Германия, регистрационный номер в России — П № 011530/01 от 15.04.2005) на работоспособность экспериментальных животных при длительной физической нагрузке.

Выбор энзимного препарата продиктован заданными требованиями к исследованию — эффективность, безопасность, совместимость, при хорошей переносимости и условием, что препарат не является допингом и не оказывает стимулирующего действия (заключение Антидопингового центра Госкомспорта России: № 041-Д/96 и № 042-Д/96 от 26.03.1996 г.). Из литературных источников известно о системном действии полиэнзимных препаратов, их комплексном воздействии на иммуновоспалительные процессы [6, 7, 9, 10, 11]. Опыт применения системной полиэнзимной терапии описан в различных областях медицины при широком спектре заболеваний. Исследователи обратили внимание на эффективность вобэнзима в травматологии, хирургии, ангиологии и лимфологии [7, 8, 9, 11]. Наряду с известными описанными действиями энзимных препаратов — иммуномодулирующим, противовоспалительным, фибринолитическим, ангиагрегантным — исследователи описывают влияние энзимов на ускорение процессов выздоровления, реабилитации и быстрой адаптации после массивных инвазивных вмешательств [1]. Одновременно в литературе не встречается описания серьезных побочных эффектов применения энзимных препаратов, за исключением послабле-

ния стула, транзиторной диареи, метеоризма, которые нивелируются после снижения дозы препарата [9, 10, 11]. Применение энзимных препаратов в случае быстро инвалидизирующих заболеваний, таких как ревматоидный артрит, длительными курсами (3-6 месяцев и более) демонстрирует высокую эффективность и хорошую переносимость в комплексной терапии [2, 5, 9].

Известно, что энзимы участвуют в обеспечении основных обменных процессов в организме человека и животных. Изменения ферментативной активности в организме происходит под влиянием эндогенных и экзогенных факторов, к ним относятся интенсивные физические нагрузки, влияющие на процессы адаптации и приспособления. Не менее важную роль в процессах адаптации играют экзогенные протеазы, которые поступают в организм человека и животных и выполняют определенные функции, в том числе стимулирующее действие на обмен веществ [8, 9, 11, 22].

Способность полиэнзимов оказывать воздействие на физическую работоспособность и процессы адаптации к экстремальным воздействиям факторов внешней среды на организм человека и животных, описаны в литературе недостаточно и представлены отдельными исследованиями. В этой связи было проведено собственное исследование влияния экзогенных энзимов на процессы адаптации после физической нагрузки у животных.

## Материалы и методы

Исследование выполнено на половозрелых беспородных белых мышах с начальной массой тела 18-20 г (питомник «Рапполово» РАМН, Санкт-Петербург). Лабораторным животным ректально с помощью атравматичного зонда, изготовленного из тонкого подключичного катетера, вводился вобэнзим из расчета 10 мг на 20 г массы тела лабораторного животного.

Таблетки препарата в количестве, необходимом для каждодневного опыта, освобожденные от кишечнорастворимой оболочки, растирали в фарфоровой ступке в порошок и ежедневно суспендировали в 1% крахмальном геле. Вводили по 0,1 мл на 1 мышью суспензии препарата 1 раз в день 6 дней в неделю в течение 3 недель.

Экспериментальные животные в количестве 90 мышей были разделены на 2 группы по 45 голов: опытная (введение вобэнзима) и контрольная (введение крахмального геля). В каждой из групп были выделены по 3 подгруппы (по 15 голов) для регистрации исследуемых показателей в конце 1, 2 и 3 недели опыта: взвешивание, плавание в аквариуме до утомления, затем

ТАБЛИЦА 1. ДИНАМИКА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ПЛАВАНИЯ БЕЛЫХ МЫШЕЙ КОНТРОЛЬНОЙ И ОПЫТНОЙ ГРУПП

Сроки	Продолжительность (мин.)		p
	Опытная*	Контрольная	
Через 1 неделю	218,2 (80-550)	342,3 (135-585)	< 0,05
Через 2 недели	144,8 (76-223)	137,6 (78-300)	> 0,05
Через 3 недели	153,1 (78-300)	105,9 (20-183)	< 0,05

**Примечания.** \* – оценка работоспособности включенных в исследование животных проводилась на основании тест-плавания с грузом, составлявшим 5% от массы тела.

на следующий день мыши были декапитированы для взятия крови на иммунологические и биохимические исследования. Тушки животных были вскрыты, выделены внутренние органы (печень, селезенка, сердце, почки, семенники) и взвешены для расчета весовых коэффициентов органов.

Для определения биохимических и иммунологических показателей белых мышей-самцов дополнительно была взята группа интактных животных того же привоза, аналогичного кормления и содержания.

Взвешивание животных осуществляли на весах марки «Sartorius Basic» (Германия). Внутренние органы животных взвешивали на весах марки «BA110S Sartorius PT1200-000V1» (Германия). Весовые коэффициенты органов (ВК) рассчитывали как отношение массы органа в мг к массе тела животного в граммах. Физическую работоспособность мышей оценивали по длительности тест-плавания с грузом, составляющим 5% от массы тела животного в стеклянном аквариуме (80 л) при температуре воды 24–25°C.

Уровень цитокинов (IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-5, IL-10, TNF $\alpha$ ), атакже гранулоцитарно-макрофагального фактора роста (GM-CSF) и уровень интерферона- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) методом мультиплексного анализа на приборе «Bio-plex» («Био-Рад», США) при использовании мышинных лабораторных наборов. Значения нормы были определены при исследовании плазмы 15 интактных животных.

Концентрацию мочевины в сыворотке крови определяли уреазным/фенол-гипохлоритным методом и выражался в ммоль/л; количество общего белка плазмы – биуретовым способом (г/л); активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови – унифицированным методом Райтмана–Френкеля; количественное определение глюкозы – глюкозооксидазным тестом (моль/л).

Полученные результаты исследования обработаны с помощью методов параметрической (t-критерий Стьюдента, 1) и непараметрической (U-критерий Вилкоксона–Манна–Уитни, Q-критерий Розенбаума). Различия между сравниваемыми выборками расценивали как значимые, если  $p \leq 0,05$ .

## Результаты

Как показали наблюдения, масса тела животных нарастала на протяжении всего срока исследования практически равномерно во всех экспериментальных группах (15 $\pm$ 3%). Статистически достоверных различий между группами по этому показателю выявить не удалось ( $p > 0,05$ ).

Животных разных подгрупп принуждали к плаванию через 1, 2 и 3 недели от начала эксперимента. Полученные сводные данные представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы, животные опытной подгруппы после первой недели эксперимента плавали достоверно меньшее время (218,2 мин), чем контрольной (342,3 мин), что может быть объяснено большей выносливостью мышей контрольной подгруппы, набранной методом случайной выборки и дополнительным стрессом при введении энзимного препарата в опытной группе.

Длительность плавания в исследуемых подгруппах через 2 недели эксперимента свидетельствует об отсутствии достоверных различий в опытных и контрольной подгруппах животных – соответственно 144,8 мин и 137,6 мин.

В дальнейшем, через 3 недели от начала эксперимента, лабораторные животные опытной группы плавали статистически достоверно более длительное время, чем мыши контрольной группы. Так, если животные, получавшие вобэнзим, плавали 153,1 мин, то мыши контрольной подгруппы могли плавать лишь 105,9 мин ( $p < 0,05$ ).

Введение белым мышам препарата вобэнзим в течение 3 недель не приводило к изменению относительной массы внутренних органов. По мере роста животных и увеличения массы их тела пропорционально увеличивалась и масса внутренних органов. Сколько-либо значимых различий по данному показателю между опытными и контрольными подгруппами выявить не удалось.

Как видно из представленных данных, отмечается снижение уровня таких провоспалительных цитокинов, как TNF $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , во всех экспериментальных группах по отношению к контролю,

ТАБЛИЦА 2. ДАННЫЕ ЦИТОКИНОВОГО СПЕКТРА ПРИ ВВЕДЕНИИ ВОБЭНЗИМА И ПЛАЦЕБО

Показатель	Через 1 неделю		Через 2 недели		Через 3 недели	
	Опытная	Контрольная	Опытная	Контрольная	Опытная	Контрольная
IL-1 $\beta$	1,1 $\pm$ 0,65	1,5 $\pm$ 1,1	0,24 $\pm$ 0,126	0,86 $\pm$ 0,19*	0,24 $\pm$ 0,126	0,99 $\pm$ 0,41*
IL-2	0,03 $\pm$ 0,01	0,032 $\pm$ 0,009	0,05 $\pm$ 0,11	0,034 $\pm$ 0,016	0,021 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01
IL-5	0,027 $\pm$ 0,01	0,047 $\pm$ 0,026	0,126 $\pm$ 0,022	0,02 $\pm$ 0,01	0,035 $\pm$ 0,01	0,08 $\pm$ 0,04
IL-10	0,93 $\pm$ 0,59	0,79 $\pm$ 0,43	0,655 $\pm$ 0,44	0,84 $\pm$ 0,55	0,4 $\pm$ 0,256	0,53 $\pm$ 0,21
GM-CSF	0,033 $\pm$ 0,02	0,024 $\pm$ 0,010	0,008 $\pm$ 0,004	0,009 $\pm$ 0,001	0,001 $\pm$ 0,0005	0,003 $\pm$ 0,001*
IFN $\gamma$	0,06 $\pm$ 0,037	0,064 $\pm$ 0,03	0,018 $\pm$ 0,01	0,018 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,01 $\pm$ 0,005
TNF $\alpha$	1,2 $\pm$ 0,894	1,18 $\pm$ 0,89	0,79 $\pm$ 0,5	0,7 $\pm$ 0,4	0,81 $\pm$ 0,409	2,7 $\pm$ 0,7*

Примечания. \* –  $p \leq 0,05$ .

причем достоверные ( $p \leq 0,05$ ) отличия отмечаются к второй и третьей неделе опыта. Что касается других медиаторов воспаления, то достоверных различий между группами не выявлено. После 3-й недели эксперимента в третьей опытной группе отмечается снижение уровня фактора гранулоцитомонопоэза (GM-CSF), что свидетельствует об интенсификации пластического и энергетического обмена.

Как видно из представленных данных (табл. 3), уровень АЛТ прямо пропорционален продолжительности эксперимента и достигал максимальных значений к 3-й неделе. При этом наблюдались статистически значимые различия между подгруппами интактных и опытных мышей подгруппы 3о ( $p = 0,012$ ) и мышей контрольной подгруппы 3к ( $p = 0,014$ ).

На фоне физических нагрузок отмечалось снижение концентрации глюкозы у лабораторных животных по сравнению с исходными величинами. Выявлены статистически достоверные отличия ( $p \leq 0,05$ ) между интактной группы и в опытных подгруппах через 1, 2 и 3 недели после начала эксперимента.

При определении концентрации мочевины в плазме крови экспериментальных животных наблюдалось снижение данного показате-

ля как в подгруппах, получавших вобэнзим, так и плацебо (табл. 3). Прослеживалась четкая зависимость между продолжительностью тестирования и уровнем концентрации мочевины. Так, на первой неделе эксперимента уровень мочевины возрастал в обеих подгруппах 1о и 1к ( $2,8 \pm 2,2$  и  $3,9 \pm 1,05$  ммоль/л), затем снижался в обеих подгруппах и после 3-й недели эксперимента достигал значений, сопоставимых с показателями интактной подгруппы ( $1,21 \pm 0,8$ ).

Через 1 неделю в опытной группе наблюдалась гипопроотеинемия, но на фоне применения препаратов системной энзимотерапии уровень общего белка плазмы стремился к исходному показателю и достигал его на 3-й неделе опыта.

## Обсуждение

Как показали результаты исследования, применение полиэнзимного препарата вобэнзим у мелких лабораторных животных при интенсивной физической нагрузке приводило к повышению их работоспособности и переносимости физической нагрузки. При этом значимый эффект повышения переносимости физических нагрузок у животных отмечался лишь через три недели от начала назначения препарата. Это объясняется тем, что при назна-

ТАБЛИЦА 3. ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ОПЫТНЫХ И КОНТРОЛЬНЫХ ГРУППАХ

Показатель/ Группы	Интактная	Через 1 неделю		Через 2 недели		Через 3 недели	
		Опытная	Контрольная	Опытная	Контрольная	Опытная	Контрольная
АЛТ (г/л)	18,6 $\pm$ 5,6	24,4 $\pm$ 12,0	25,8 $\pm$ 10,1	44,0 $\pm$ 12,2*	23,7 $\pm$ 11,8	51,2 $\pm$ 22,2*	53,8 $\pm$ 14,1
Глюкоза (ммоль/л)	5,1 $\pm$ 0,4	4,1 $\pm$ 0,4*	4,7 $\pm$ 0,8	3,9 $\pm$ 0,6*	4,2 $\pm$ 0,3	3,7 $\pm$ 0,6*	4,27 $\pm$ 1,2
Мочевина (ммоль/л)	1,21 $\pm$ 0,8	2,8 $\pm$ 2,2	3,9 $\pm$ 1,05	0,2 $\pm$ 0,3	1,7 $\pm$ 0,8	1,3 $\pm$ 0,8	1,0 $\pm$ 0,2
Белок (г/л)	40,5 $\pm$ 4,7	18,8 $\pm$ 2,6*	34,9 $\pm$ 10,1	30,2 $\pm$ 5,4	37,4 $\pm$ 6,6	39,6 $\pm$ 7,3	36,5 $\pm$ 6,2

Примечания. \* –  $p \leq 0,05$  в сравнении с показателями интактной группы.

чении системной энзимотерапии запускаются долгосрочные процессы адаптации, связанные с несколькими ключевыми механизмами. В первую очередь, это активация энзимами альфа-2-макроглобулина и некоторых других антипротеаз крови с модуляцией продукции про- и противовоспалительных цитокинов, их транспорта, метаболизма и клиренса [5, 6, 8]. Также описано влияние СЭТ на гуморальную регуляцию: продукцию и метаболизм компонентов симпатoadренальной системы включая, прежде всего, гормоны надпочечников; перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему; функциональное состояние печени (жировой, углеводный обмена); реологические свойства крови и состояние микроциркуляторного русла. Цитокин-опосредованные эффекты связаны с тем, что эти медиаторы участвуют не только в иммунной защите, но и в энергетическом обеспечении клеток-мишеней и стимулируют повышение концентрации ростовых факторов (например, GM-CSF), участвующих в процессах обеспечения пластических функций организма.

Приведенные эксперименты подтвердили влияние пероральных энзимов на цитокиновую сеть и метаболические показатели, что коррелирует с исследованиями, проведенными на спортсменах (Суздальницкий Р.С., Левандо В.А., Стернин Ю.И.). Таким образом, применение системной энзимотерапии может способствовать повышению адаптогенных функций организма экспериментальных животных и при длительной физической нагрузке (тест-плавание), что создаст обоснование для применения полиэнзимных препаратов у людей, подвергающихся интенсивным и предельно переносимым физическим нагрузкам в различных условиях влияния окружающей среды.

## Список литературы

1. Кошкин В.М., Минаев С.В., Спесивцев Ю.А., Кнорринг Г.Ю. Полиферментные препараты в хирургической практике. — СПб.: Человек, 2004. — 112 с.
2. Мазуров В.И., Лиля А.М., Столов С.В. и др. Иммунологические аспекты применения системной энзимотерапии // Цитокины и воспаление. — 2002. — Т. 1, № 2. — С. 169-170.
3. Метаболизм в процессе физической деятельности: Сб. тр. / Под ред. М. Харгривса. — Киев: Олимпийская литература, 1998. — 286 с.
4. Сафонов Л.В. Профилактика нарушений венозного кровообращения нижних конечностей,

возникающих в условиях длительной гиподинамии у спортсменов высших квалификаций: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2004. — 24 с.

5. Сизякина Л.П. Системная энзимотерапия при лечении аллергических и иммуноопосредованных заболеваний. — СПб., 2006. — 360 с.

6. Системная энзимотерапия // Мат. II междунар. конф. / Под ред. В.И. Мазурова, А.М. Лиля, Ю.И. Стернина. — СПб.: Моби Дик, 1996. — 96 с.

7. Системная энзимотерапия в гинекологии: Сб. / Под ред. М.А. Репиной, Г.Ю. Кнорринга. — СПб.: Человек, 2002. — 112 с.

8. Системная энзимотерапия. Опыт и перспективы / Под ред. В.И. Кулакова, В.А. Насоновой, В.С. Савельева. — СПб.: Интер-Медика, 2004. — 264 с.

9. Системная энзимотерапия. Современные подходы и перспективы / Под ред. В.И. Мазурова. — СПб.: Питер: Некоммерческое партнерство издателей Санкт-Петербурга, 1999. — 224 с.

10. Системная энзимотерапия: Практик. рук. для врачей / Под ред. В.А. Насоновой, С.М. Гавалова // Тюменский мед. журн. — 2000. — № 2. — С. 42-52.

11. Системная энзимотерапия: Практик. рук. для врачей / Под ред. В.А. Насоновой, В.И. Мазурова. — СПб.: Интермедика, 2003. — 32 с.

12. Смирнов М.Р. Теоретические основы беговой нагрузки. — Новосибирск, 1998. — 216 с.

13. Стернин Ю.И. Перспективы использования полиэнзимных препаратов при спортивной деятельности // Теория и практика физ. культуры. — 2002. — № 8. — С. 48-50.

14. Стернин Ю.И. Эффективность применения полиэнзимных препаратов при спортивной деятельности: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 2003. — 26 с.

15. Стернин Ю.И., Суздальницкий Р.С., Левандо В.А. Иммуномодулирующие свойства полиэнзимных препаратов при спортивных стрессорных иммунодефицитах // Физкультура в профилактике, лечении и реабилитации. — 2003. — № 1. — С. 21-25.

16. Суздальницкий Р.С., Левандо В.А., Оксень В.Н. Влияние полиэнзимных смесей на некоторые показатели в процессе спортивной тренировки // Мат. II междунар. конф. по системной энзимотерапии. — М., 1996. — С. 90-95.

17. Суздальницкий Р.С., Левандо В.А., Оксень В.Н. Влияние полиэнзимных смесей на некоторые физиологические и иммунологические показатели в процессе спортивной тренировки. — М.: Спортивная медицина, 1998.

18. Суздальницкий Р.С., Левандо В.А., Оксень В.Н., Орджоникидзе З.Г., Стернин Ю.И.

Системная энзимотерапия в спорте: Метод. указания. – М., 1999. – 32 с.

19. Суздальницкий Р.С., Левандо В.А., Стернин Ю.И. и др. Экспериментальное изучение механизмов иммунной защиты полиэнзимных препаратов при спортивной деятельности // Вестн. спортивной науки. – 2003. – № 1 (1). – С. 28-32.

20. Чекман И.С. Физиологическое тестирование спортсменов высокого класса / Под ред. Д. МакДугласа. – Киев, 1998.

21. Kleine M. Systemische Enzymtheapie in dër Sportmedizin // Deutsch Z. Sportmediz.: 1990, Bd.19; 1; – P. 140-143.

22. Veremeenko K.N., Kizim A.I. Biochemical bases of system enzymeiherapy // New Findings and perspectives. – Prague: 1998. – P. 1-2.

*поступила в редакцию 23.10.2008*

*отправлена на доработку 27.10.2008*

*принята к печати 05.11.2008*