

УДК 612;591.1

С.Т. ТУЛЕУХАНОВ, Д.Р. СЫБАНБЕКОВА

ВЛИЯНИЕ ИЗЛУЧЕНИЙ ГЕЛИЙ-НЕОНОВОГО ЛАЗЕРА И МОНОХРОМАТИЧЕСКОГО КРАСНОГО ПОЛЯРИЗОВАННОГО СВЕТА НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ КРОВИ И КОНЦЕНТРАЦИЮ ОБЩЕГО БЕЛКА У КРЫС

(Казахский Национальный университет им. аль Фараби)

Исследовали влияние гелий-неонового лазера и монохроматического красного поляризованного света на протеолитическую активность ферментов крови и концентрацию общего белка у крыс в зависимости от экспозиций облучения. Показано, что указанные физические факторы с экспозицией облучения в 15 и 30 секунд оказывают стимулирующее воздействие на протеолитическую активность ферментов крови и концентрацию общего белка.

В настоящее время внимание физиологов, иммунологов, биохимиков привлечено к протеолитическим ферментам, которые играют важную роль в обмене веществ. Сведения о протеолизе важны для выяснения многих вопросов теоретической и практической биологии и медицины, а полученные новые результаты должны привести к успешному решению проблем практического здравоохранения [1]. Протеолитические ферменты катализируют расщепление пептидных связей в белках и пептидах. При этом они не только участвуют в неспецифическом распаде белковых молекул, но имеют и регуляторное значение, являясь одним из механизмов биологического контроля функций органов и тканей организма [2]. Доказано, что уровень общей протеолитической активности различных тканей может служить показателем выраженности действия химических веществ и биологических соединений на организм [3]. В настоящее время гелий-неоновые лазеры находят все более широкое применение в различных областях биологии и медицины, что является стимулом для накопления экспериментальных фактов. Показано, что инфракрасное излучение неодимового лазера вызывает заметное повышение гемоглобина, эритроцитов даже после однократного локального воздействия. Действие хронических доз лазерного облучения на состав крови, пока не исследовалось [4]. Мало что известно о влиянии физических факторов, в частности, излучения гелий-неонового лазера и монохроматического красного поляризованного света на протеолитическую активность фермен-

тов крови организма. В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы явилось изучение влияния гелий-неонового лазера и монохроматического красного поляризованного света на протеолитическую активность ферментов крови и концентрацию общего белка у крыс в зависимости от экспозиций облучения.

Материалы и методы. В качестве объектов исследования использовали самцов лабораторных белых крыс с массой тела 200-250 гр. Были сформированы 3 группы животных, каждая из которых была подразделена на 8 подгрупп. В эксперименте были задействованы 168 животных.

В качестве источников воздействия на организм животных были использованы гелий-неоновый лазер с длиной волны 632,8 нм и с мощностью 25 мВт/см², а также монохроматический красный поляризованный свет (МКПС) с длиной волны 630,0-680,0 нм и с мощностью 5-10 мВт/см². Облучение животных осуществляли в семи экспозициях: 3 сек; 15 сек; 30 сек; 1 мин; 3 мин; 5 мин и 7 мин ежедневно в течение 10 дней.

По окончании эксперимента осуществляли забор крови методом декапитации. Во всех образцах крови определяли уровень общей протеолитической активности (ОПА), концентрацию общего белка. Определение уровня ОПА проводили в соответствии с методикой [5].

Осадок эритроцитов тщательно освобождали от лейкоцитов, дважды промывали фосфатным буферным раствором (рН - 7.4) и центрифугировали при тех же условиях. Полученный осадок красных кровяных клеток использовали для пос-

ледующего определения их протеолитической активности.

В качестве проб использовали по 0,2 мл эритроцитарной массы с добавлением в каждую пробу в качестве субстрата по 0,2 мл плазмы (для определения общей протеолитической активности эритроцитов). А для определения общей протеолитической активности плазмы использовали пробы с 0,2 мл плазмы. Показателем уровня общей протеолитической активности рассматривали накопление свободных аминокислот и пептидов, имеющих NH₂-группы, в пробах, выдерживаемых в термостате в течение 4- часов при температуре 37°С. Спектрофотометрически определяли экстинкцию опытных (после инкубирования) и контрольных (без инкубирования) проб. Расчетным путем находили истинную экстинкцию пробы. Затем делали пересчет на 1 мл эритроцитов или плазмы на 1 час инкубации. По формуле находили соответствие найденной экстинкции концентрации глицина на 1 час инкубации. Всего про-

ведено 720 биохимических анализов проб крови. Опыты проводились с 09.00 до 13.00 часов дня.

После центрифугирования крови в течение 10 мин при 1000 g в полученной плазме определяли концентрацию белка биуретовой методикой, основанной на свойстве пептидов и белков образовывать с ионами меди в щелочной среде комплекс сине-фиолетового цвета, интенсивность которого прямо пропорциональна концентрации общего белка в пробе и измеряется фотометрически [6]. Полученные данные обрабатывали статистически и изменения считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований активности протеолитических ферментов крови и концентрации общего белка у крыс в зависимости от экспозиции облучения гелий-неоновым лазером и монохроматическим красным поляризованным светом, а также их сочетанного воздействия, представлены в таблицах 1, 2, 3.

Таблица 1. Показатели активности протеолитических ферментов крови и концентрации общего белка у крыс до и после воздействия излучением гелий-неонового лазера в зависимости от экспозиции облучения

Экспозиция облучения, сек	Протеолитическая активность плазмы, мкг Гли/мл/час M±m n=80	Протеолитическая активность эритроцитов, мкг Гли/мл/час M±m n=80	Концентрация общего белка, г/л M±m n=80
Интактные	47,88±3,9	144,17±5,5	68,01±4,3
3 сек	43,61±5,6**	140,18±4,3**	70,19±4,1
15 сек	40,24±7,0***	146,19±2,9	68,05±3,5
30 сек	42,06±6,9***	150,24±1,8***	65,89±2,9
1 мин	48,15±5,4	163,02±5,6***	65,24±5,8
3 мин	46,14±2,1	161,64±2,4***	59,21±6,4***
5 мин	62,99±5,4***	164,38±6,0***	56,04±4,5***
7 мин	83,93±3,20***	166,17±6,2***	50,63±5,9***

Примечание: Отличия достоверны при $p < 0,05^*$; при $p < 0,01^{**}$; при $p < 0,001^{***}$

В табл. 1 представлены результаты эксперимента по определению активности протеолитических ферментов крови и концентрации общего белка у крыс до и после воздействия излучением гелий-неонового лазера в зависимости от экспозиций облучения. Установлено, что излучение гелий-неонового лазера оказывает стимулирующее действие по отношению к протеолитической активности ферментов плазмы и эритроцитов, и степень реактивности зависит от экспози-

ции облучения. Так, активность протеаз плазмы увеличивается при 5-минутном воздействии гелий-неоновым лазером, а протеазы эритроцитов начинают усиленно активизироваться при экспозиции воздействия, равной 1 мин. На содержание общего белка гелий-неоновый лазер, как выяснилось, оказывает противоположное действие: количество белков в плазме снижается, причем, начиная с 30-секундного воздействия гелий-неоновым лазером. Таким образом, наши

исследования позволили установить, что на активность протеаз гелий-неоновый лазер оказывает стимулирующее влияние, а на белки плаз-

мы - подавляющее действие, причем, влияние напрямую зависит от экспозиции воздействия.

Таблица 2. Показатели активности протеолитических ферментов крови и концентрации общего белка у крыс до и после воздействия монохроматическим красным поляризованным светом в зависимости от экспозиции облучения

Экспозиция облучения, сек	Протеолитическая активность плазмы, мкг Гли/мл/час M±m n=80	Протеолитическая активность эритроцитов, мкг Гли/мл/час M±m n=80	Концентрация общего белка, г/л M±m n=80
Интактные	50,23±4,3	140,20±6,0	71,01±6,6
3 сек	51,14±6,1	146,25±5,3***	73,02±4,9
15 сек	50,20±5,2	145,25±4,2***	74,9±5,0**
30 сек	51,24±3,9	140,96±3,9	76,9±5,8***
1 мин	60,50±4,1***	159,14±5,8***	74,05±4,9*
3 мин	63,01±6,8***	161,32±4,9***	63,7±3,3***
5 мин	67,05±4,0***	170,02±6,1***	60,9±2,8***
7 мин	70,3±2,9***	179,26±5,0***	55,18±6,8***

Примечание: Отличия достоверны при $p < 0,05^*$; при $p < 0,01^{**}$; при $p < 0,001^{***}$

В следующей серии экспериментов были проведены исследования влияния МКПС на активность протеолитических ферментов крови и концентрацию общего белка в плазме крови в зависимости от экспозиции облучения, результаты которых представлены в таблице 2.

Данные эксперимента продемонстрировали изменение показателей активности протеаз плазмы и эритроцитов, а также концентрации общего белка под действием МКПС, однако, эти изменения выражены значительно, чем в случае воздействия гелий-неоновым излучением. И здесь также обнаружена взаимосвязь между показателями плазмы, эритроцитов и концентрации белка с экспозицией облучения. Мы установили, что уже при экспозиции облучения МКПС, равной 1 мин, происходит усиление активности протеолитических ферментов и плазмы, и эритроцитов. На концентрацию общего белка МКПС, также как и гелий-неоновый лазер оказывает подавляющий эффект, но при более длительном воздействии – 3 мин, а не при 30 сек, как в случае с гелий-неоновым лазером. Итак, нами было установлено, что в сравнении с гелий-неоновым лазером МКПС обладает более выраженным действием

по отношению к показателям протеолитической активности ферментов плазмы и эритроцитов, но гораздо более низким эффектом по отношению к содержанию общего белка.

Результаты исследования сочетанного действия излучения гелий-неонового лазера и МКПС на уровень протеолитической активности ферментов крови и концентрацию общего белка представлены в таблице 3.

Показано, что сочетанное воздействие этих факторов приводит к повышению уровня протеолитической активности ферментов плазмы и эритроцитов при экспозиции, равной 3 мин. Концентрация общего белка в плазме начинает также снижаться при экспозиции облучения, равной 3 мин. Таким образом, при сочетанном действии гелий-неонового лазера и МКПС наблюдается усиление активности протеаз крови, но снижение концентрации белка в плазме, и изменения происходят при экспозиции, равной 3 мин.

Итак, нами было установлено, что гелий-неоновое лазерное облучение и монохроматический красный поляризованный свет оказывают влияние на активность протеолитических ферментов и концентрацию общего белка в плазме крови

Таблица 3. Показатели активности протеолитических ферментов крови и концентрации общего белка у крыс до и после сочетанного воздействия гелий-неоновым лазером и монохроматическим красным поляризованным светом в зависимости от экспозиции облучения

Экспозиция облучения, сек	Протеолитическая активность плазмы, мкг Гли/мл/час M±m n=80	Протеолитическая активность эритроцитов, мкг Гли/мл/час M±m n=80	Концентрация общего белка, г/л M±m n=80
Интактные	40,31±3,9	133,29±5,5	75,16±5,0
3 сек	42,16±4,8	140,06±4,6***	72,25±7,1*
15 сек	39,26±5,4	137,04±7,1**	70,06±4,6***
30 сек	41,22±6,0	140,18±6,4***	66,12±6,5***
1 мин	43,36±2,4*	149,07±3,3***	74,05±3,2
3 мин	53,28±5,5***	165,37±4,7***	58,01±2,9***
5 мин	66,27±4,3***	173,24±2,8***	55,13±5,8***
7 мин	73,14±6,1***	181,24±6,0***	50,24±2,7***

Примечание: Отличия достоверны при $p < 0,05^*$; при $p < 0,01^{**}$; при $p < 0,001^{***}$

крыс, причем степень этого влияния зависит от экспозиции воздействия. Гелий-неоновый лазер и МКПС оказывают влияние на данные параметры крови не только в своем сочетанном действии, но и как самостоятельные раздражители.

Все более широкое использование лазеров и в научных исследованиях, биологии, медицине, сельском хозяйстве, ветеринарии, несомненно, требует знаний биофизических механизмов действия. Но, с другой стороны, уникальные свойства лазерного излучения – высокая монохроматичность, когерентность, возможность получения нерасходящихся пучков с высокой интенсивностью, делают весьма привлекательным их использование в качестве инструмента исследования для изучения различных свойств биологических объектов [7].

ЛИТЕРАТУРА

1. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. -М.: Мир, 1982.-Т.1-С.370.
2. Веремеенко К. Н., Голобородько О. П., Кизим А. И. Протеолиз в норме и при патологии. - К.: Здоровья, 1988. 198 с.
3. Жандаулетова Р. Б. Протеолитическая активность эритроцитов, состав крови у женщин в Приаралье и их изменения при дыхательных тренировках: Автореф. диссер. степени канд. биолог. наук. – Алматы, 2003. - С. 3-4.

4. Инюшин В. М. Лазерный свет и живой организм. / Научно-методическое пособие для студентов, аспирантов, научных и практических работников биологического профиля / -Алма-Ата. -1970. – С. 45

5. Кольбай И.С., Сейткулова Л.М. Уровень протеолитической активности различных звеньев лимфатической системы кишечника в норме и при действии ионов кадмия и глутатиона // Известия МОН РК. Серия биологическая и медицинская. -2000. – № 1. С.39-45

6. Асатиани В. С. Биохимическая фотометрия. - М.: Изд. АН СССР. -1957.- С.248

7. Инюшин В.М., Тулеуханов С. Т., Абдвахитова А. К. Об особенностях лазерного излучения /Методическое руководство к лабораторным занятиям по биофизике, по спецкурсам фотобиология, медицинская и ветеринарная биофизика/ Алма-Ата. – 1986. – С.47

Резюме

Егеуқұйрықтарға гелий-неондық лазер мен монохроматтық қызыл полярлық сәулелердің әсерін зерттей отырып, олардың қанындағы протеолитикалық фермент белсенділігі мен жалпы белок концентрациясы анықталды. Зерттеу барысында аталған физикалық факторлардың сәулелендіру экспозициясының 15–30 секунд аралығында қандағы жалпы белок концентрациясы мен протеолитикалық фермент белсенділігіне стимулдық әсер ететіндігі дәлелденді.

Summary

This report inform about results of study of laser s and monochromatic red light's influence for physiological parameter of blood-activity of proteolitical enzymes.