

# ВЛИЯНИЕ СТАТИЧЕСКОГО ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО ПОЛЯ НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ КЛЕТОЧНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ

Н. М. Михальцова, М. С. Будько

*Белорусский государственный университет, г. Минск;  
che.mihalcov@bsu.by, margarita.budko@mail.ru;  
науч. рук. – Е. А. Чернявский, канд. хим. наук*

На сегодняшний день получено достаточно большое количество данных о влиянии внешних электромагнитных полей на биологические объекты. В данной работе изучалось влияние повышенной напряженности внешнего электростатического поля (далее ЭСП) на протеолитическую активность ферментов крови человека. Используя метод абсорбционной спектроскопии, исследовали влияние времени пребывания в ЭСП (100 кВ/м) при комнатной температуре на протеолитическую активность ферментов. В ходе исследований было установлено, что ЭСП оказывает влияние на протеолитическую активность форменных элементов крови. Результатом обработки ЭСП в течение 2 часов суспензии тромбоцитов стало повышение протеолитической активности ферментов. Обработка ЭСП в течение 1 часа в случае плазмы крови не оказывала статистически значимого эффекта на протеолитическую активность. Установлено, что в результате обработки суспензии эритроцитов ЭСП в течение 1 часа происходило высвобождение протеолитических ферментов в плазму.

**Ключевые слова:** протеолитические ферменты; электростатическое поле; плазма; тромбоциты; эритроциты.

## ВВЕДЕНИЕ

Естественный электромагнитный фон Земли является необходимым, эволюционно сложившимся условием для нормальной жизнедеятельности биологических систем. Однако на сегодняшний день напряженность электромагнитных полей искусственного происхождения на несколько порядков превышает напряженность естественных ЭМП, а это выходит за пределы адаптационных способностей организма [1].

Таким образом, цель исследования заключалась в изучении влияния повышенной напряженности внешнего электростатического поля на протеолитическую активность ферментов крови человека. Для достижения поставленной цели в ходе работы решались следующие задачи:

- определить *in vitro* изменения в активности ферментов форменных элементов крови под влиянием внешнего ЭСП;
- изучить влияние времени воздействия ЭСП на протеолитическую активность ферментов форменных элементов крови.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для определения протеолитической активности использовали модифицированный метод М.Л. Ансона [2]. Метод основан на гидролизе 2 % белка (в данной работе использовали фибриноген) препаратом фермента при  $(37,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$ , с последующей инактивацией фермента и осаждением непрогидролизованного белка 0,3 М трихлоруксусной кислотой (далее ТХУ). Для полного осаждения раствор выдерживали 20 мин при  $(37,0 \pm 0,2)^\circ\text{C}$  и фильтровали.

Протеолитическую активность в ед/мл вычисляли по формуле:

$$A = \frac{D \cdot 4 \cdot 1000}{1,15 \cdot 10 \cdot m},$$

где  $D$  – оптическая плотность, измеренная спектрофотометрически; 4 – отношение объемов реакционной смеси и раствора фермента после добавления ТХУ; 1,15 – тирозиновый эквивалент; 10 – время гидролиза субстрата, мин;  $m$  – количество ферментного препарата, взятого на протеолиз (в мг на 1 мл ферментного раствора); 1000 – переводной коэффициент полученных единиц на 1 г ферментного препарата.

Спектрофотометрические измерения проводились на спектрофотометре Solar PB2201 (Беларусь), с использованием программ регистрации спектров поглощения. Применяли кварцевые кюветы с длиной оптического пути 10 мм.

Выделение лейкоцитов проводили по методике [3]. Кровь получали от здоровых доноров из вены с использованием 3,8 % цитрата натрия в качестве противосвертывающего агента. Образец крови смешивали с равным объемом 1 % раствора желатина и инкубировали 1 час при  $37^\circ\text{C}$ . После осаждения эритроцитов, супернатант отбирали в отдельную пробирку и трижды отмывали раствором Хенкса, центрифугируя по 10 мин при 3000 об/мин.

Выделение эритроцитов проводили по методике [4]. В пробирку с кровью добавляли двухкратный избыток буфера 50 мМ Tris-HCl с рН 7,4, содержащего 150 мМ NaCl, центрифугировали 10 мин при 1000 об/мин. Далее супернатант удаляли и полученные эритроциты 3 раза промывали избытком буферного раствора, центрифугируя по 10 мин при 2000 об/мин.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для работы использовали суспензию тромбоцитов в плазме крови. Увеличение времени предварительной обработки ЭСП приводило к повышению протеолитической активности суспензии тромбоцитов по сравнению с контрольными образцами тромбоцитов, не подверженных действию ЭСП (рис. 1).

Обработка суспензии тромбоцитов ЭСП в течение 2 часов при комнатной температуре приводила к повышению протеолитической активности суспензии тромбоцитов на 28,3 % по сравнению с необработанными образцами (рис. 2).

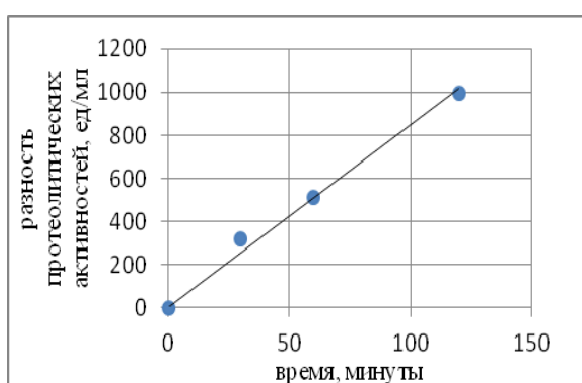


Рис. 1. Зависимость разности протеолитической активности образца суспензии эритроцитов, обработанного ЭСП в течение разного промежутка времени, и контрольного образца, не подверженного действию ЭСП от времени обработки ЭСП

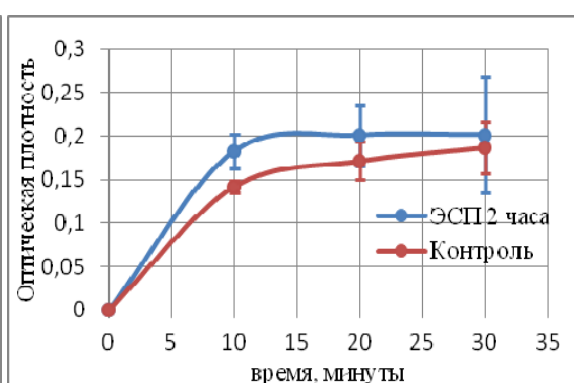


Рис. 2. Зависимость оптической плотности водорастворимых пептидов, высвобождающихся при гидролизе фибриногена ферментами суспензии тромбоцитов от времени гидролиза

На следующем этапе проводили измерение протеолитической активности образцов плазмы, обработанной ЭСП (100 кВ/м) в течение 1 часа и контрольного образца (1 час при комнатной температуре). Сравнение данных контрольного образца и обработанного ЭСП показало отсутствие статистически значимых отличий. (рис. 3).

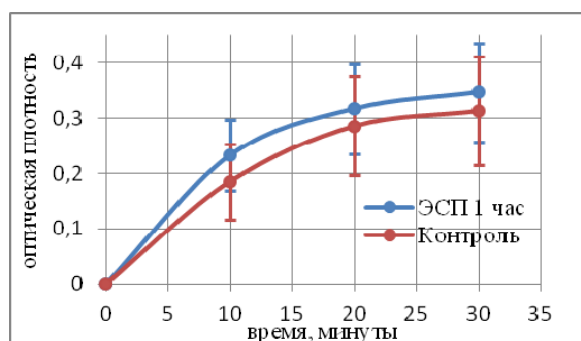


Рис. 3. Зависимость оптической плотности водорастворимых пептидов, высвобождающихся при гидролизе фибриногена ферментами плазмы крови от времени гидролиза.

В результате обработки образцов крови ЭСП в течение 1 часа при комнатной температуре и дальнейшем центрифугировании пробы, в суспензии эритроцитов наблюдалось уменьшение протеолитической активности ферментов при гидролизе казеина, а в супернатанте наблюдалось повышение протеолитической активности (таблица). Таким образом, можно сделать вывод, что из эритроцитов под действием ЭСП высвобождались протеолитические ферменты в плазму.

Таблица

#### Протеолитическая активность образцов суспензии эритроцитов

Исследуемый образец	Протеолитическая активность суспензии эритроцитов, ед/мл	Протеолитическая активность плазмы, ед/мл
Контрольный образец (инкубированный при комнатной температуре 1 час)	208,7	78,3
Образец, обработанный ЭСП в течение 1 часа	191,3	108,7

Таким образом, в данной работе показано, что ЭСП оказывает влияние на протеолитическую активность форменных элементов крови. Данные эффекты могут быть причиной отрицательного эффекта воздействия ЭСП на сердечно-сосудистую систему живых организмов.

#### Библиографические ссылки

1. Кураев Г. А., Войнов В. Б., Моргалев Ю. Н. Влияние электромагнитных излучений ПК на организм человека // Вестн. Томск. гос. ун-та. 2000. № 269. С. 8–14.
2. Препараты ферментные. Методы определения протеолитической активности : ГОСТ 20264.2-88. Введ. 01.07.90. Москва, 1988.
3. Медико-биологическая оценка безопасности наноматериалов : МУ 1.2.2635-10. Введ. 24.05.2010. Москва, 2010.
4. Jacques J. A. Modulation of glucose transport in human red blood cells by Atp // Biochimica et Biophysica Acta. 1983. Vol. 727. P. 367–378.