



УДК 577.153-3 : 576.3

А. Т. ПИКУЛЕВ, И. П. ХРИПЧЕНКО, З. И. КРАВЧУК

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СОДЕРЖАНИЕ ПИРИДОКСАЛЕВЫХ КОФЕРМЕНТОВ В МОЗГУ КРЫС

Основная коферментная форма витамина В₆ — пиридоксаль-фосфат (ПАЛФ) и пиридоксамин-фосфат (ПАМФ) является биокатализатором широкого спектра действия и в составе многочисленных пиридоксальных ферментов принимает активное участие в регуляции обмена веществ, некоторых биогенных аминов, ряда простетических групп и других физиологически активных соединений. Под действием света гелий-неонового лазера происходят изменения в активности ферментов пиридоксалевого ряда. Для уточнения механизма действия нами проведены исследования по изучению лазерного излучения (λ — 632,8 нм) на уровень ПАЛФ и ПАМФ в головном мозгу крыс.

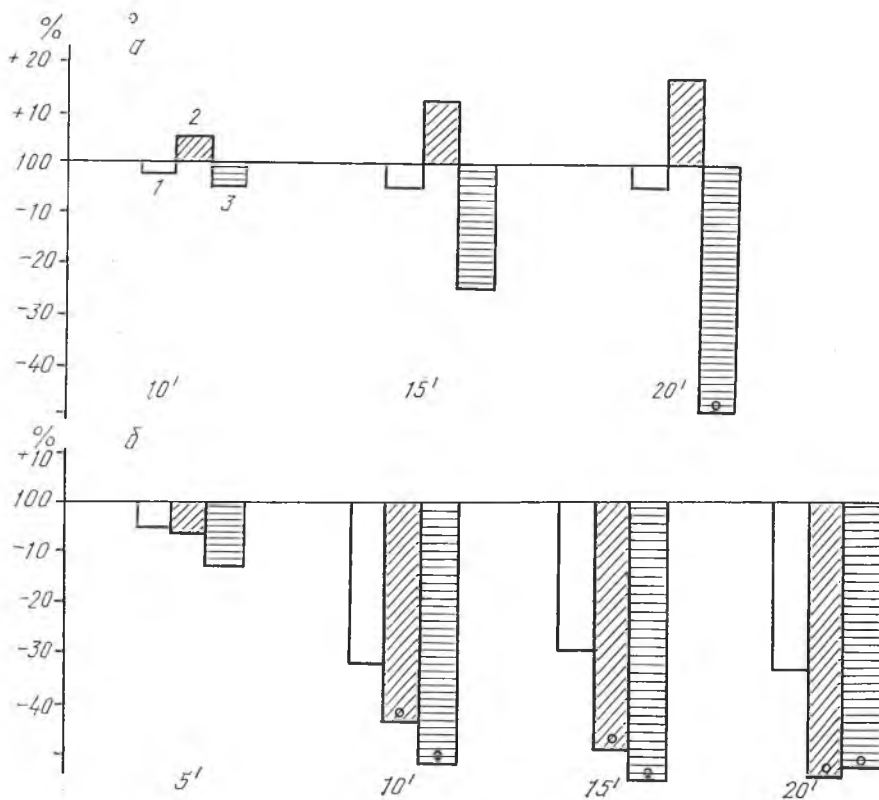
Материал и методика

Опыты (*in vivo* и *in vitro*) проведены на половозрелых крысах смешанной популяции линии Вистар стадного разведения весом 100—150 г, содержащихся на стандартном пищевом рационе вивария. В опытах *in vivo* крыс жестко фиксировали в станке и теменную область облучали сфокусированным пучком лазерного света (площадь пятна 0,1 см²). В опытах *in vitro* облучению подвергались субклеточные фракции мозга интактных животных, выделенные методом [1]. Источником лазерного света служил лазер ЛГ-75 (λ — 632,8 нм, выходная мощность 9 мВт, плотность мощности 70 мВт/см²). Время облучения 5, 10, 15 и 20 мин. Контролем служили фиксированные животные. Облученные животные и фракции после облучения, контрольные крысы брались в опыт через 20 мин после облучения или фиксации.

Содержание пиридоксальных коферментов определяли по методике, предложенной Е. В. Горяченковой [2] с использованием апофермента, предварительно выделенного из пекарских дрожжей по методу Хольца в модификации [3]. Полученные данные обработаны методом вариационной статистики и представлены на рисунке и в таблице [4].

Результаты и их обсуждение

Как следует из рисунка, в опытах *in vivo* при 10-минутном облучении существенных изменений содержания ПАЛФ и ПАМФ не отмечается. После 15-минутной экспозиции количество ПАЛФ снижается в ядерной и надосадочной фракциях (на 8 и 25 % соответственно) с одновременным повышением его в митохондриях (12 %). После 20-минутного облучения направленность изменений соответствует предыдущей серии опытов, но более резко (на 50 %) снижен уровень коферментов в надосадочной фракции.



Содержание ПАЛФ и ПАМФ в субклеточных фракциях мозга под влиянием лазерного излучения (λ -632,8 нм) *in vivo* (а), *in vitro* (б):

1 — ядерная фракция; 2 — митохондрии; 3 — надосадочная фракция; ● — достоверные данные

Перераспределение коферментов в опытах между субклеточными фракциями мозга под влиянием лазерного излучения (λ -632,8 нм), %

Фракция	10 мин		15 мин		20 мин	
	К	О	К	О	К	О
Ядерная	31,90	31,37	34,05	33,80	32,73	35,17
Митохондрии	38,50	40,39	36,95	43,35	35,15	46,20
Надосадочная	29,60	28,24	29,00	22,85	32,12	18,63

Примечание: К — контроль, О — опыт.

В опытах *in vitro* изменения содержания пиридоксальных коферментов носят несколько иной характер. Так, после 5-минутного облучения появляется тенденция к снижению уровня ПАЛФ и ПАМФ в исследуемых фракциях головного мозга. При облучении 10, 15 и 20 мин отмечаются выраженные стабильные изменения, статистически значимые в митохондриях и в надосадочной фракции.

Учитывая специфику лазерного излучения на биосубстрат и связывая ее с когерентностью и монохроматичностью [5], можно подойти к объяснению полученных данных в опытах *in vitro*. Благодаря когерентной природе светового луча вызывает перемещение не только заряженных, но и незаряженных частиц. При этом частицы (макромолекулы или их комплексы) побуждаются к направленным перемещениям благодаря взаимодействию между электрическим зарядом частицы и

электрическим полем внутри лазерного пучка. Движения, не связанные с фотохимическими превращениями, в принципе могут инициировать определенные биологические последствия, не характерные для обычного света [6]. Высокая монохроматичность лазерного излучения позволяет осуществить избирательное возбуждение определенных колебательных подуровней в молекулах. Прежде всего это влияет на электрически-конформационное состояние отдельных участков макромолекул белков [7].

В комплексе апофермент — кофермент оба компонента существенно влияют на свойства друг друга. Так, апофермент в ряде случаев обладает меньшей конформационной устойчивостью и более рыхлой структурой. В свою очередь, кофермент при связывании с апоферментом приобретает индивидуальную оптическую активность. Таким образом, возникает уникальный способ детектировать изменения микроокружения кофермента в ходе ферментативной активности [8].

Исходя из знаний состояния кофермента в белке аспартатамино-трансферазы [9], можно предположить, что под влиянием лазерного излучения могут нарушаться ионные, гидрофобные, водородные связи между апоферментом и коферментом и образовываться иные. Это, в свою очередь, может привести к уменьшению активности фермента с параллельным уменьшением содержания свободных форм его. Не исключено, что снижение уровня ПАЛФ и ПАМФ может быть обусловлено также изменением активности ферментных систем, обеспечивающих их синтез в клетке [10]. В частности, отмечено нарушение обмена АТФ в аналогичных условиях эксперимента, что, по-видимому, может сказаться на образовании коферментных форм витамина B₆.

Менее выраженное уменьшение содержания ПАЛФ и ПАМФ в опытах *in vivo* связано с тем, что кожей и костями черепа поглощается от 45—54 до 67 % падающего света [11]. С другой стороны, эти данные полностью коррелируют с результатами [12], полученными при исследовании активности пиридоксальзависимых ферментов. Сравнивая изменение уровня ПАЛФ и ПАМФ в мозгу в опытах *in vivo* с изменением активности АСТ, можем предположить, что в данном случае активность АСТ лимитируется содержанием пиридоксальных коферментов. Наблюдаемое перераспределение ПАЛФ и ПАМФ (см. таблицу) между митохондриями и надосадочной фракцией, вероятно, связано с изменением проницаемости митохондриальных мембран [13]. Изменение функционального состояния митохондрий может свидетельствовать о локализации в них акцепторов монохроматического красного света [14].

ЛИТЕРАТУРА

1. Somogyi J. et al.— *Acta physiol.*, 1962, v. 21, p. 295.
2. Горяченкова Е. В.— *Биохимия*, 1964, т. 28, № 3, с. 565.
3. Горяченкова Е. В. и др.— *Укр. біох. ж.*, 1965, т. 37, № 6, с. 861.
4. Рокницкий П. Ф. *Биологическая статистика*.— Минск, 1978.
5. Вагнер Р. И., Матус И. Я., Хачатурян М. М.— *Вопр. онкологии*, 1977, т. 23, № 7, с. 11.
6. Конев С. В., Волотовский И. Д. *Фотобиология*.— М., 1979.
7. Рубин Л. Б. *Лазерная техника в современной биологии*.— М., 1978.
8. Veitch S.— *Ann. Rev. Biochem.*, 1978, v. 37, p. 437.
9. Иванов В. И., Карпейский М. Я.— В кн.: *Обмен аминокислот*. Тбилиси, 1967.
10. Буклин Ю. В.— В кн.: *Актуальные проблемы витаминологии*. М., 1978, т. 1, с. 21.
11. Лапрун И. Б., Аджи молаев Т. А., Зубкова С. М.— *Здравоохранение*, 1977, № 4, с. 45.
12. Лаврова В. М., Пикулев А. Т., Мостовников В. А.— *Vesni AN BSSR. Ser. biol.*, 1982, № 4, с. 78.
13. Плетнев С. Д. *Лазеры в клинической медицине*.— М., 1981.
14. Зубкова С. М. *Науч. докл. высшей школы*, 1978, № 1, с. 87.