

УДК 616.31 – 616-92

ВЛИЯНИЕ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИ АКТИВИРОВАННОЙ ВОДЫ (ЭХАС) НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ АОЗ У ИНТАКТНЫХ КРОЛИКОВ

¹Мрикаева О.М., ²Дзугкоева Ф.С.

¹ГОУ ВПО СОГМА «Федеральное агентство по здравоохранению и социальному развитию», Владикавказ;

²УРАН Институт биомедицинских исследований ВНЦ РАН и Правительства РСО-Алания, Владикавказ, e-mail: elena_takoeva@mail.ru

Исследовано влияние новой технологии с электрохимически активированной системой на активность ферментов антиоксидантной системы (ЭХАС): супероксиддисмутазы, каталазы и пероксидазы *in vitro* и *in vivo* у интактных кроликов. Данные показали, что ЭХАС обладает тренирующим действием на активность СОД, каталазы и пероксидазы. В опытах *in vitro* и *in vivo* установлено повышение активности ферментов АОЗ в эритроцитах у кроликов, получавших с питьем ЭХАС, и в опытах *in vitro* при инкубации гемолизата эритроцитов с ЭХАС. Для влияния ЭХАС на активность ферментов характерна дозо-временная зависимость. Полученные данные являются основанием для клинического применения ЭХАС в стоматологической практике.

Ключевые слова: СОД, каталаза, пероксидаза, кролики, эритроциты, ЭХАС

THE INFLUENCE OF ELECTROCHEMICAL ACTIVATED WATER (EChAW) ON THE ACTIVITY OF AOD-ENZYMES AT HEALTHY RABBITS

¹Mrikaeva O.M., ²Dzugkoeva F.S.

¹ГОУ ВПО СОГМА «Federal agency on public health services and social development», Vladikavkaz;

²ERAS Institute of Biomedical Research of RAS VSC and Government of RNO-Alania, Vladikavkaz, e-mail: elena_takoeva@mail.ru

The influence of new technology with electrochemical activated water (EChAW) on activity of enzymes of antioxidizing system (AOS) is investigated: superoxide dismutase, catalase and peroxidase *in vitro* and *in vivo* at healthy rabbits. Data have shown that EChAW trains the activity of SOD, catalase and peroxidase. In experiences *in vitro* and *in vivo* increase of activity of enzymes of AOD in erythrocytes at the rabbits received with drink EChAW was shown, and in experiences *in vitro* is established at incubation of erythrocyte's hemolysate with EChAW. For influence of EChAW on activity of enzymes dose-time dependence is characteristic. The Obtained data are the basis for clinical application of EChAW in a stomatologic practice.

Keywords: SOD, catalase, peroxidase, rabbits, erythrocytes, EChAW

В настоящее время накоплен значительный экспериментальный и клинический материал, свидетельствующий о важной роли свободно-радикального окисления (СРО) в изменении структуры биомолекул [4, 3, 1]. Инициатором СРО выступают активные формы кислорода, образование которых усиливается при многих воспалительных и воспалительно-деструктивных заболеваниях, в том числе и при красном плоском лишае, сопровождающемся эрозивно-язвенными изменениями в полости рта [2, 6]. Образованные в очаге воспаления АФК взаимодействуют со всеми классами органических соединений: белками, полисахаридами, коллагеном, но наиболее чувствительны к ним полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК). Поэтому перекисное окисление липидов рассматривается как один из уникальных фундаментальных механизмов повреждения клеточных мембран. Вместе с тем «дыхательный взрыв» в моноцитах и макрофагах сопровождается быстрым повышением внутриклеточного содержания глутатиона. Активация фактора транскрипции NF – κB повышает устойчивость клеток к апоптозу индуцированным воздействием активных метаболитов кислорода.

Таким образом, одновременно с усилением продукции АМК моноциты и макрофаги повышают свой уровень антиоксидантной защиты (АОЗ). Антиоксидантная система (АОС) включает ферментные и неферментные формы защиты от ПОЛ, способные инактивировать активные формы кислорода, осуществлять обрыв цепей на стадии зарождения липидных радикалов и гидроперекисей. В ферментативной защите принимают участие супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы, гидроперексидазы – обезвреживающие первичные и промежуточные продукты ПОЛ. Основанием для научного интереса к использованию электрохимически активированных систем (ЭХАС) в виде водных растворов, является возможность регулирования показателей окислительно-восстановительного потенциала и pH внутренних сред, вследствие образования OH⁻ и H⁺ групп. В соответствии с существующим патентом [5] эта вода эффективна в клинической практике для лечения воспалительных процессов полости рта, патологических процессов кожи, слизистых, а также гнойных ран. Более того, использование такой активированной воды

является путем фармакологической стимуляции антиоксидантной защиты организма.

Разработанная новая технология воздействия на АОС ЭХАС в виде водных растворов позволяет вводить в организм стандартизованную по показателям ОВП и pH воду, обогащенную за счет электрохимической обработки по OH^- или H^+ группам и с регулируемым ОВП.

Цель исследования: изучение влияния ЭХАС на активность ферментов АОС: СОД, каталазы и глутатионпероксидаза *in vitro* и *in vivo* на интактных кроликах.

Материал и методы исследования

Исследования проведены на 11 интактных кроликах, получавших в течение 48 часов питье с 200 мл ЭХАС с ОВП с 60 мВ. ЭХАС получали, пропуская раствор хлористого натрия (1 г/л) через установку «Изумруд», имеющую 2 реакционных блока и обеспечивающую получение ЭХАС с ОВП от +200 до –70 мВ. Определение и постоянный контроль за ОВП проводился в течение опыта на pH-метре с платиновыми электродами в стандартном режиме определения ОВП проб. По окончании эксперимента забиралась кровь их ушной вены с антикоагулянтном трилоном, после центрифугирования производили трехкратное отмывание эритроцитов физиологическим раствором с последующим их гемолизом. В гемолизате эритроцитов определяли активность ферментов АОС: СОД, каталазы и пероксидазы. Активность каталазы определяли по скорости расщепления перекиси водорода с регистрацией оставшегося количества перекиси в реакции с молибдатом аммония. Об активности пероксидазы судили в реакции с перекисью водорода в присутствии окислительно-восстановительного индикатора – индигокармина; активность СОД – по реакции ингибирования восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) супероксидными ионами, генерируемыми в реакции с НАДФНН+ с фенолметилсульфонатом (ФМС). В другом варианте исследования проводили определение указанных ферментов АОС в гемолизате эритроцитов, инкубированных *in vitro* с разными концентрациями ЭХАС и ОВП.

Весь полученный материал обрабатывали методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента на ПК по программе Microsoft Excel.

Результаты исследования и их обсуждения

Анализ данных, полученных *in vivo* на кроликах, которых поили в течение 48 часов электрохимически активированной водой, показал, что происходит активация ферментов АОС, в частности, супероксиддисмутазы (СОД). Чувствительность СОД эритроцитов к действию ЭХАС статистически достоверно возрастает. Эти данные подтверждают, что более активная СОД, обеспечивающая реакцию дисмутации супероксид анион радикала, способствует стимулированию образования перекиси водорода как менее реактивного соединения. Исследования, проведенные в экспери-

ментах *in vitro*, позволили выявить прямое влияние ЭХАС на активность СОД и показали позитивные изменения. Активность СОД возросла статистически достоверно, что подтверждает возможность конформационных изменений молекулы фермента под влиянием образовавшихся в среде метастабильных структурных аномалий воды (электростатического поля) (рис. 1).

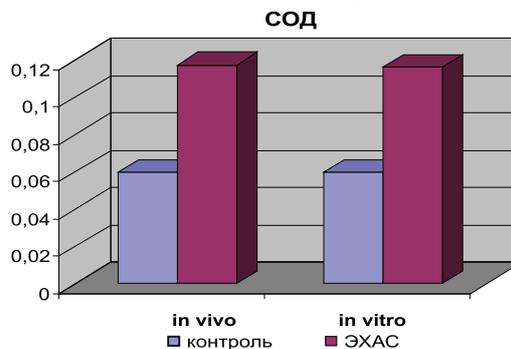


Рис. 1. Влияние ЭХАС на активность СОД эритроцитов кроликов *in vivo* и на чувствительность фермента при инкубации с лизатом эритроцитов *in vitro*

Изучение влияния ЭХАС на эффективность СОД в зависимости от времени преинкубации с лизатом эритроцитов показало, что при преинкубации в течение 5 минут отмечается стимулирование чувствительности СОД, а при 10-минутной инкубации влияние ЭХАС приобретает двуфазный характер, когда начальная активация сменяется снижением чувствительности фермента; при 20-минутной инкубации выявляется только явление ингибирования. Следовательно, для влияния ЭХАС на активность СОД характерна дозозависимая зависимость. Исследование активности каталазы в опытной группе кроликов с поением ЭХАС сравнительно с контрольной группой, показало, что потребление субстрата за время реакции с каталазой эритроцитов возрастало, что свидетельствовало об активировании данного энзима (рис. 2).

Рассмотрение влияния ЭХАС по каждому из животных отдельно показывает в условиях *in vivo* также активацию фермента. Сохраняется при средних значениях концентрации также стимулирующее влияние ЭХАС на каталазу лизата эритроцитов в опытах *in vitro*. Причем следует отметить, что при преинкубации пробы эритроцитов с различными концентрациями ЭХАС в течение 5–20 минут выявляется быстрое активирование фермента с последующим возвращением к исходному уровню активности. Таким образом, влияние ЭХАС на каталазу кроликов характеризуется временными и дозозависимыми эффектами.

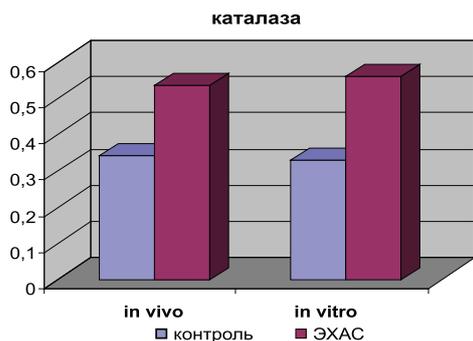


Рис. 2. Влияние ЭХАС на активность каталазы эритроцитов кроликов *in vivo* и на чувствительность фермента при инкубации с лизатом эритроцитов *in vitro*

Анализ влияния ЭХАС на активность пероксидазы эритроцитов кролика показал те же закономерности, характерные для воздействия на активность каталазы. Под влиянием электрохимически активированной воды у кроликов *in vivo* возрастала активность пероксидазы в эритроцитах (рис. 3).

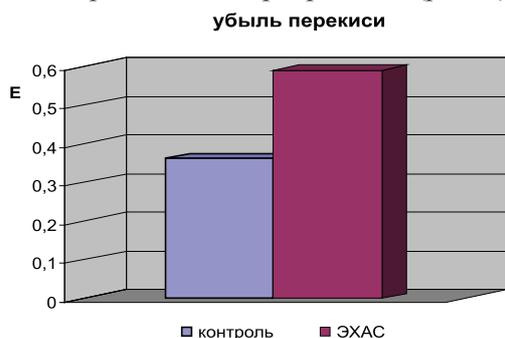


Рис. 3. Изменение активности пероксидазы эритроцитов кроликов, получавших питье электрохимически активированной водой

Аналогичная картина активации фермента наблюдалась и в опытах *in vitro* при инкубации лизата эритроцитов с ЭХАС. Было установлено, что чем больше концентрация ЭХАС использовалась для преинкубации с эритроцитами, тем меньше время было необходимо для достижения максимума активности фермента (рис. 4).

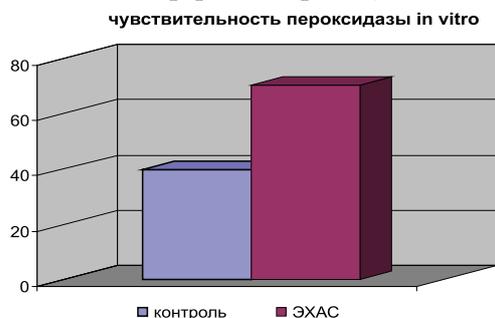


Рис. 4. Влияние ЭХАС на чувствительность пероксидазы при инкубации с лизатом эритроцитов *in vitro*

Заключение

В отличие от каталазы выявлены отсроченные влияния второй фазы – подавление активности пероксидазы при высоких концентрациях ЭХАС в среде и при длительном времени влияния ЭХАС на лизированные эритроциты.

Таким образом, в механизме влияния ЭХАС на активность ферментов АОЗ: СОД, каталазы и пероксидазы участвует способность электрохимически активированной воды создавать отрицательное значение ОВП, избыток электронов и генерировать образование супероксид анион радикалов (O_2^-), обладающего тренирующим действием на состояние активности ферментов антиокислительной системы. Длительная инкубация гемолизата эритроцитов с ЭХАС и повышение концентрации активированной воды, возможно, вызывает столь значительное повышение концентрации активных форм кислорода (АФК), окисляющих тиосодержащие активные центры ферментов, что способствует изменению их конформации и последующей инактивации.

Таким образом, в зависимости от времени, дозы и длительности действия ЭХАС способны генерировать АФК и стимулировать антиоксидантные ферменты, что является основанием для применения ЭХАС в клинической практике, в частности, для лечения гнойных и воспалительных процессов слизистых оболочек полости рта.

Список литературы

1. Арутюнян А.В., Козина Л.С. Механизмы свободнорадикального окисления и его роль в старении // Успехи геронтологии. – 2009. – Т.22, № 1. – С. 104–116.
2. Банченко Г.В., Максимовский Ю.М., Гринин В.М. Язык – «зеркало организма» // Клин. рук. для врачей. ЗАО «Бизнес центр стоматология». – 2000. – С. 198–208.
3. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньшикова Е.В. Окислительный стресс: биохимические и патофизиологические аспекты. – М.: МАИК Наука/Интерпериодика, 2008. – С. 340.
4. Ланкин В.З. Свободнорадикальные процессы в норме и патологических состояниях. Пособие для врачей // В.З. Ланкин, А.К. Тихадзе, Ю.Н. Беленков // НИИ кардиологии им. А.Л. Меньшикова РКНППК МЗ РФ. – 2-е изд., испр. и доп. – М., 2001.
5. Подколотин А.А., Хасанов Р.Ш. Заявка на изобретение № 36528413 (121800) от 09.08.1983.
6. Сильвермен С., Эверсоуи Л.Р., Трулав Э.Л. Заболевания полости рта. – М.: Медпресс-информ, 2010. – С. 263–268.

Рецензенты:

Джиоев И.Г., д.м.н., профессор, зав. ЦНИЛ ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития России, г. Владикавказ;

Чопикашвили Л.В., д.б.н., профессор, зав. кафедрой зоологии, Северо-Осетинский государственный университет имени К.Л. Хетагурова, г. Владикавказ;

Быков И.М., д.м.н., профессор, зав. кафедрой фундаментальной и клинической биохимии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздравсоцразвития России, г. Краснодар.

Работа поступила в редакцию 28.11.2011.