

УДК 615.015.16

ИЗУЧЕНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗЫ С АЦЕТИЛХОЛИНОМ, ОБЛУЧЕННЫМ ИМПУЛЬСНЫМ МАГНИТНЫМ ПОЛЕМ

© Печко А.Е.¹, Роденко Н.А.^{1,2}, Васильева Т.И.¹

¹ Самарский национальный исследовательский университет
имени академика С.П. Королева, г. Самара, Российская Федерация

² Самарский федеральный исследовательский центр Российской академии наук,
г. Самара, Российская Федерация

e-mail: pechko2000@mail.ru

Импульсные магнитные поля (ИМП) нашли широкое применение в различных областях современных технологий. Множество работ показывают активацию различных молекул при воздействии на них импульсными магнитными полями высокой напряженности.

В данной работе рассматривалось изменение активности гидролитического фермента ацетилхолинэстеразы (АХЭ), которая катализирует гидролиз нейромедиатора ацетилхолина до холина и остатка уксусной кислоты. Катализируемая данным ферментом реакция необходима для дезактивации ацетилхолина в синаптической щели и перехода клетки-мишени в состояние покоя.

Целью работы являлось изучение взаимодействия ацетилхолинэстеразы с ацетилхолином, обработанным импульсным магнитным полем.

Обработка ацетилхолина производилась на магнитно-импульсной установке МИУ-15, сконструированной в Самарском университете. Магнитно-импульсная обработка материалов относится к группе импульсных методов обработки, которые характеризуются высокой энергией и кратковременностью силового воздействия [2]. Производилась обработка ацетилхолина в порошкообразном состоянии при следующих напряженностях магнитного поля $0,09 \cdot 10^6$ А/м, $0,50 \cdot 10^6$ А/м и $0,82 \cdot 10^6$ А/м при частоте $f = 40$ кГц с количеством импульсов $n = 1$.

Для модельного эксперимента был выбран фермент-ацетилхолинэстераза электрического угря (Sigma-Aldrich, Германия), потому что данный фермент является доступным и представляет собой мишень для лекарств. Для анализа активности АХЭ была использована методика с субстратом в виде ацетилхолин хлорида (Sigma-Aldrich, Германия). К 0,1 мл раствора фермента ацетилхолинэстеразы (15 мг в 10 мл дистиллированной воды) добавляли 2 мл буферного раствора (рН = 8,4) и термостатировали 30 минут при 37 °С. Параллельно термостатировали 2 %-ный водный раствор ацетилхолин хлорида, используемого в качестве субстрата. Для постановки ферментативной реакции к анализируемому раствору ацетилхолинэстеразы добавляли 0,5 мл 2 %-ного водного раствора ацетилхолин хлорида, смесь инкубировали в течение 30 минут при температуре 37 °С. Ферментативную реакцию останавливали, добавляя по 0,2 мл 1 %-ного водного раствора карбофоса. В качестве опытной пробы использовали смесь, в состав которой ингибитор вносили перед термостатированием. По окончании реакции в каждую пробу вносили по 2,1 мл дистиллированной воды и по 0,3 мл индикатора фенолового красного (0,02 %-ный водный раствор). Выделившееся количество уксусной кислоты оценивали по малиновой окраске на спектрофотометре (UVmini-1240, Япония) при длине волны 540 нм. Производился расчет разности между показателями прибора для опытной и контрольных проб, по калибровочному графику определяли количество уксусной кислоты, образовавшейся в опыте. Далее проводился

эксперимент после обработки субстрата ИМП. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью критерия Стьюдента.

Было получено достоверное увеличение активности ацетилхолинэстеразы по сравнению с контролем при напряженности ИМП $0,09 \cdot 10^6$ А/м и $0,82 \cdot 10^6$ А/м. На основании полученных данных можно говорить о том, что воздействие на ацетилхолин хлорид ИМП увеличило активность фермента ацетилхолинэстеразы, возможно, это произошло за счет увеличения сродства к активному центру фермента обработанного ИМП субстрата. Таким образом, появилась возможность увеличения активности лекарственных препаратов-ингибиторов, поэтому можно рекомендовать к использованию препараты, подвергшиеся облучению импульсными магнитными полями.

Библиографический список

1. Сидоренко С.В., Яковлев С.В. Бета-лактамы антибиотиков // Русский медицинский журнал. 1997. Т. 5, № 21. 1367–1381 с.
2. Глушников В.А., Карпухин В.Ф. Технология магнитно-импульсной обработки материалов. Самара: Издательский дом «Федоров», 2014. 208 с.