

О МЕХАНИЗМЕ АКТИВАЦИИ СОД АКТИВНОСТИ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЛАЗЕРНОГО И СВЕТОДИОДНОГО ОБЛУЧЕНИЯ НА КЛЕТКИ И ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Владимиров Ю.А., Жидкова Т.В., Проскурнина Е.В., Измайлов Д.Ю.

Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
факультет фундаментальной медицины
Ломоносовский пр., дом 31, корп. 5, Москва, 119192, Россия
тел.: +7(499)147-55-08, e-mail: yuvlad@mail.ru

Увеличение активности защитного фермента супероксиддисмутазы (СОД) – один из самых важных эффектов действия лазерного и светодиодного излучения на клетки, ткани и целый организм человека и животных. Нами было проведено исследование влияния рН, пероксида водорода и излучения на активность СОД с применением трех методов. Было показано, что активность Cu-Zn-СОД при снижении рН падает только при рН ниже 4 и после этого не восстанавливается при облучении светом с длиной волны 650 нм. Активность фермента также снижалась при рН 7 и 6 при инкубации фермента в растворе с пероксидом водорода. Однако облучение образцов, инактивированных пероксидом водорода, светом с длиной волны 650 нм вызывало не восстановление, а дальнейшее снижение активности СОД, что можно объяснить образованием дополнительного количества радикалов из пероксида водорода при облучении. Таким образом, полученные данные не подтвердили гипотезу о фотореактивации СОД под действием красного света лазера.

Ключевые слова: СОД, фотореактивация, хемиллюминесценция, лазерное излучение, светодиодное излучение.

Список сокращений: АБАП - 2,2'-азобис(2-метилпропионамидин)дигидрохлорид, ГНЛ – гелий-неоновый лазер, ЛПО – липопероксидация, цепное (перекисное) окисление липидов, НИЛИ – низкоинтенсивное лазерное излучение, СОД – супероксиддисмутаза, СОД активность – супероксиддисмутазная активность, ХЛ – хемиллюминесценция.

Введение

Одно из самых очевидных следствий облучения клеток, тканей и организма человека и животных – это увеличение супероксиддисмутазной активности в облучаемом объекте. Активация СОД активности наблюдалась при облучении светом красного или ИК лазера изолированных лейкоцитов [4, 9], перитонеальных макрофагов [6], кожных ран [7, 8], кишечника [24]. Активация СОД в плазме крови наблюдалась при лазерном облучении уха животного [9]. Все эти исследования были стимулированы результатом более ранней работы Е.А.Горбатенковой и сотрудников [2]. При инкубировании медь-цинковой супероксиддисмутазы в кислой среде (рН 5,9) авторы наблюдали инактивацию фермента в течение двух часов. Последующее облучение светом красного лазера приводило к восстановлению активности фермента. Поскольку СОД имеет полосу погло-

щения в красной области, предполагалось, что при облучении инактивированной СОД светом ГНЛ происходит смещение кислотно-основного равновесия гистидина в активном центре фермента и ферментативная активность восстанавливается [3, 20]. Нас смутило то обстоятельство, что согласно данным других авторов [22], инактивация супероксиддисмутазы в кислой среде происходит только при рН ниже четырех. Это противоречие могло быть связано со спецификой метода определения активности СОД в работе [2] (использовали НАДН как источник супероксидрадикалов и нитросиний тетразолий как реагент на эти радикалы). В настоящей работе мы попытались воспроизвести данные, изучив влияние рН и облучения на активности фермента и используя при этом три метода, основанные на измерении хемиллюминесценции в присутствии активаторов люминола и люцигенина:

1. В системе АБАП/люминол [16].
2. В системе пероксидаза хрена/люминол [15].
3. По специально разработанной нами методике в системе H_2O_2/Co^{2+} /люцигенин [21].

Материалы и методы

В работе использованы реактивы: KH_2PO_4 (Sigma, $\geq 98\%$); KOH ; люцигенин (Sigma-Aldrich);

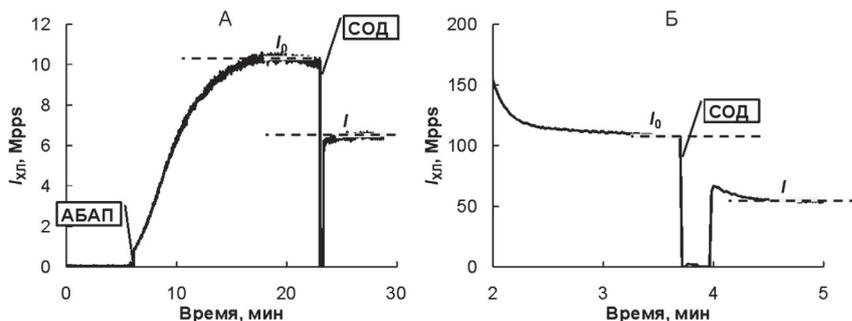


Рис. 1. Кривые хемилюминесценции при измерении активности СОД: (А) - в системе АБАП/люминол, содержащей 0,25 мкМ АБАП и 10 мкМ люминол, рН 8,5; (Б) - в системе пероксидаза из корней хрена (ПКХ)/люминол, содержащей 1,5 мкг/мл ПКХ и 62 мкМ люминол, рН 9,4. I_0 и I – средняя интенсивность ХЛ до и после добавления СОД.

пероксид водорода (Aldrich, 30%); $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ (Sigma, 98.0-102.0%); супероксид-дисмутаза СОД (Sigma, 4470 международных единиц/мг); люминол; 2,2'-азобис(2-метилпропионамидин) дигидрохлорид АБАП (Sigma); пероксидаза из корней хрена ПКХ (Sigma), буфер Кребса-Рингера рН 7,4; реагент для определения общего содержания белка (Sigma).

В работе использована аппаратура: установка очистки воды Milli-Q (Millipore, Франция); магнитная мешалка Biosan (Латвия); спектрофотометр SPECORD 200 (Analytic Jena, Германия); хемилюминометр Lum-5773 с программным обеспечением PowerGraph 3.3 Pro, (ДИСофт, Россия).

В качестве источника излучения использовали лазерный диод с длиной волны 650 нм (40 мВт; диаметр луча 5 мм), и лазеры с длиной волны 532 нм (20 мВт; диаметр луча 5 мм, Лазер-Экспорт, Россия) и 442 нм (20 мВт; диаметр луча 5 мм, Plasma, Россия).

На основе анализа литературных данных нами были выбраны две ранее применявшиеся хемилюминесцентные методики определения активности СОД: измерение хемилюминесценции в системе АБАП/люминол [14] и в системе пероксидаза хрена/люминол [15]. Типичные примеры записи хемилюминесценции показаны на рисунке 1. За единицу активности СОД в этих системах принимали концентрацию СОД, снижающую

площадь под кривой хемилюминесценции в два раза ($c_{1/2}$), как это делается и в других работах [11, 15, 18, 19].

Следует отметить, что оба рассмотренных метода, несмотря на наши усилия, не давали возможности измерять активность СОД в кислых рН, что было необходимо для решения поставленной в работе задачи. Поэтому нами был

использован также недавно разработанный метод определения активности СОД, в основу которого положено измерение хемилюминесценции люцигенина в системе, содержащей H_2O_2 и ионы Co^{2+} [23]. При добавлении в такую систему различных количеств СОД наблюдалось снижение интенсивности ХЛ; при этом наблюдалась линейная зависимость между отношением светосуммы ХЛ в контрольной пробе (S_0) к пробе с СОД

(S) и концентрацией СОД, в соответствии с известным уравнением Штерна-Фольмера (рис. 2). В дальнейших опытах за единицу активности также принимали концентрацию СОД, снижающую площадь под кривой хемилюминесценции в два раза ($c_{1/2}$).

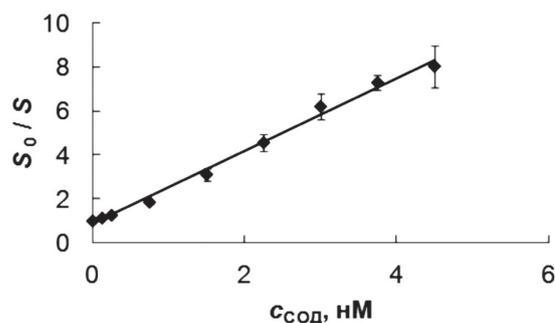


Рис. 2. Влияние СОД на хемилюминесценцию в системе Co^{2+} , H_2O_2 и люцигенин.

На графике показана зависимость площади под кривой ХЛ от концентрации СОД в координатах Штерна-Фольмера. $S_0/S = (1,35 \pm 0,04) \cdot c + (0,9 \pm 0,1)$

Для верификации методики мы проводили определение уровня фермента в биологических образцах (в плазме крови, эритроцитах и митохондриях). Основные этапы пробоподготовки были те же, что и в работе [17]. Чтобы уменьшить возможное влияние других (кроме СОД) белков на результа-

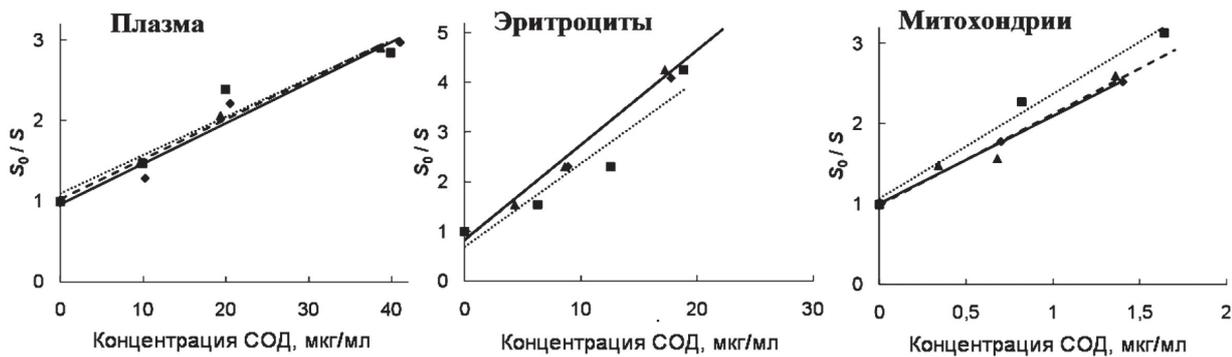


Рис. 3. Определение активности СОД в биологических образцах методом тушения хемилюминесценции в системе Co^{2+}/H_2O_2 /люцигенин. По ординате отложено отношение площади под кривой хемилюминесценции без и в присутствии биологического образца, по абсциссе отложена концентрация белка в образце (мкг/мл). Приведены данные для тканей лабораторных животных. Раствор содержал 100 мМ фосфатный буфер, рН 8,5 (общий объем раствора в кювете 1 мл), 0,30 мМ $CoCl_2$, 0,10 мМ люцигенин, 3,00 мМ пероксида водорода, различные количества плазмы, эритроцитов или митохондрий крыс

ты анализа, пробы прогревались в течение 10 мин при 60°C. Полученные зависимости светосуммы хемилюминесценции от количества приведены на рисунке 3; они достаточно хорошо подчинялись уравнению Штерна-Фольмера. В качестве контроля использовали образцы, выдержанные 10 минут при 95°C для инактивации также и СОД. При этом полученные образцы не снижали интенсивность ХЛ статистически значимо.

Было проведено также определение активности СОД в плазме и гемолизате эритроцитов в группе доноров из 5 человек. Полученные значения активности фермента (35 и 247 ед/мг белка)

ценили светом ГНЛ лазера в течение 30 и более секунд (мощность источника 2 мВт). Для проверки этих данных на первом этапе были проведены эксперименты, аналогичные работам [2, 20], но с использованием разработанной нами системы для определения активности СОД кобальт/пероксид водорода/люцигенин [23], а также уже известных систем для определения активности СОД: АБАП/люминол [14] и ПКХ/люминол [15].

Образцы СОД при рН 7,0 и 6,0 выдерживали 2 часа, после чего измеряли активность СОД в указанных трех системах. Активность СОД ($A_{СОД}$) при рН 7,0 принимали за 100%, а активность при рН 6,0 сравнивали с активностью СОД при рН 7,0. Результаты экспериментов приведены на рисунке 4. Как можно видеть, при двухчасовой инкубации фермента при рН 7,0 и 6,0 инактивация не наблюдалась. Статистически значимо активность фермента снижалась только при рН 2 и 3 (рис. 5).

Причиной снижения активности СОД при патологических процессах может быть, по-видимому, не просто закисление среды, но одновременное воздействие пероксида водорода [10], при котором происходит инактивация фермента под действием образующихся из H_2O_2 свободных радикалов.

В связи с этим были поставлены опыты, в которых СОД инкубировали в течение двух часов при различных рН в присутствии 10 мкМ H_2O_2 . Результаты представлены на рисунке 6. Можно видеть, что активность СОД при инкубации в присутствии пероксида водорода снижалась на 30%

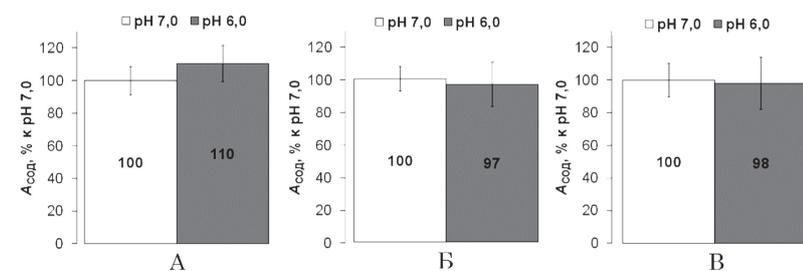


Рис. 4. Влияние рН (7,0 и 6,0) на активность СОД ($A_{СОД}$): (А) - в системе АБАП/люминол; (Б) - в системе пероксидазы из корней хрена/люминол; (В) - в системе кобальт/пероксид водорода/люцигенин

были близки к аналогичным значениям для крови крыс [21]. При этом относительное стандартное отклонение между пробами для разных доноров не превышало 15%.

Результаты

В работах [2, 20] утверждалось, что активность СОД из бычьих эритроцитов снижается практически до 0 % при инкубации в растворе с рН 5,9-6,0 в течение двух часов, при этом активность полностью восстанавливалась при облу-

при рН 6 и 7, а при рН 3 снижение активности составляло 70%.

На последнем этапе проверки гипотезы о фотореактивации СОД было проведено исследование облучения в красной области спектра на активность предварительно инкубированного в разных условиях фермента. Были выбраны рН 3, 6 и 7 и в этих условиях фермент инкубировали два часа в присутствии 10 мкМ пероксида водорода. Затем образцы облучали светом гелий-неонового лазе-

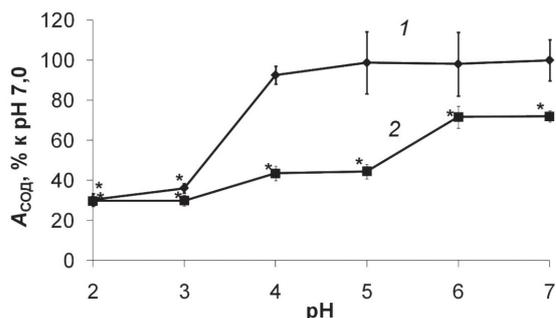


Рис. 5. Зависимость активности СОД ($A_{\text{СОД}}$) от рН в отсутствие (1) и в присутствии 10 мкМ пероксида водорода H_2O_2 (2) в системе кобальт/пероксид водорода/люцигенин. Символом * отмечены точки, отличающиеся от контрольного значения при рН 7,0 ($\alpha = 0,05$)

ра. Время облучения было 30 с (доза 6 Дж/см²), так как в работе [2] за это время активность СОД восстанавливалась (доза облучения в работе не указана). Результаты этих опытов также представлены на рисунке 6. Облучение образцов СОД при рН 3 не приводило к восстановлению активности СОД, а облучение образцов при рН 6 и 7 в присутствии H_2O_2 приводило не к фотореактивации, а к еще большему снижению активности СОД: на 10 и 30 % соответственно по сравнению с контрольным значением при рН 7,0.

Таким образом, нам не удалось воспроизвести результаты работы [2].

Обсуждение

В работах по исследованию механизма фотореактивации СОД снижение активности фермента в кислой среде авторы связывали с изменениями в активном центре белка, в результате чего происходила инактивация фермента [2, 20]. Предполагалось, что в очагах воспаления, где рН занижен, происходит инактивация СОД, а под действием лазерного облучения фермент реактивируется.

Эти представления не получили подтверждения в настоящем исследовании. Активность СОД, прединкубированной при рН 6,0, по нашим данным не отличалась статистически значимо от активности

СОД, выдержанной в нейтральной среде. Активность СОД снижалась лишь при рН ниже 5, так что в области рН 2-3 уменьшалась до 30-36% от контрольного значения при рН 7. Полученные результаты согласуются с литературными данными [5, 13]. Эти результаты говорят о том, что снижение активности Cu-Zn-СОД при физиологически низких значениях рН не происходит.

Не получили подтверждения также данные о фотореактивации СОД. В опытах, где СОД предварительно выдерживали при рН 3, 6 и 7, значительная инактивация наблюдалась лишь при рН 3. Но ни в одном случае при последующем облучении красным светом фотореактивация не имела место.

При патологических процессах активность СОД может снижаться под действием пероксида водорода [10]. В наших экспериментах было показано, что активность СОД снижалась на 30% при выдерживании в течение двух часов при рН 6 и 7 в присутствии пероксида водорода в весьма низкой концентрации (10 мкМ). При рН 3 снижение активности СОД в присутствии H_2O_2 достигало 70% от исходной активности фермента (рН 7 без пероксида водорода). Однако, облучение образцов не приводило ни в одном случае к восстановлению активности фермента: облучение СОД, инактивированной в кислой среде (рН 3), не влияло существенно на активность СОД, а облучение при рН 6 и 7 в при-

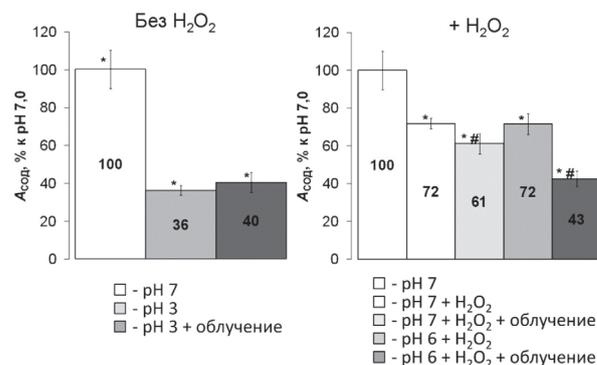


Рис. 6. Влияние облучения с длиной волны 650 нм (доза 6 Дж/см²) на активность СОД ($A_{\text{СОД}}$), инактивированной в отсутствие (при рН 3) и в присутствии 10 мкМ пероксида водорода (при рН 7 и 6).

Символом * отмечены точки, отличающиеся от контрольного значения ($\alpha = 0,05$). Символом # отмечены точки, отличающиеся от необлученного образца ($\alpha = 0,05$) при одинаковом рН

сутствии H_2O_2 приводило к еще большему снижению активности СОД по сравнению с контролем. Последний эффект, возможно, связан с образованием дополнительного количества радикалов из H_2O_2 ,

так как скорость распада пероксида водорода резко увеличивается под воздействием света, при этом количество образовавшихся радикалов пропорционально количеству H_2O_2 и дозе облучения [12].

Если фотореактивация СОД не имеет место не только в наших модельных экспериментах, но и в живых клетках и тканях, то с чем же тогда связано увеличение супероксиддисмутазной активности при действии лазерного и светодиодного облучения на изолированные лейкоциты, перитонеальные макрофаги, кожные раны [4, 6, 7, 8, 9] и другие ткани человека и животных [24], о котором говорилось во введении? Вероятно, это

увеличение (иногда во много раз!) связано с активацией биосинтеза СОД в результате воздействия интенсивного света в красной области спектра. Об этом, в частности, говорят данные о том, что увеличения активности СОД в перитонеальных макрофагах при лазерном облучении не происходит в присутствии ингибитора белкового синтеза циклогексимида [1, 5, 13]. Механизм этой активации биосинтеза, равно как и возможность в определенных условиях фотореактивации СОД или ее комплексов – дело предстоящих исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ.

Литература

1. Владимиров Ю.А. Молекулярно-клеточные механизмы действия низкоинтенсивного лазерного излучения. / Ю.А. Владимиров, Г.И. Клебанов, Г.Г. Борисенко, А.Н. Осипов // Биофизика - 2004. - Т. 49, № 2. - С. 339-350.
2. Горбатенкова Е.А. Реактивация супероксиддисмутазы излучением гелий-неонового лазера. / Е.А. Горбатенкова, О.А. Азизова, Ю.А. Владимиров // Биофизика - 1988. - Т. 33 - С. 717-718.
3. Горбатенкова Е.А. Красный свет гелий-неонового лазера реактивирует супероксиддисмутазу. / Е.А. Горбатенкова, Ю.А. Владимиров, Н.В. Парамонов, О.А. Азизова // Бюлл. эксп. биол. мед. - 1989. - Т. 57, № 3. - С. 302-305.
4. Клебанов Г.И. Изменение активности супероксиддисмутазы в процессе стимуляции полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови. / Г.И. Клебанов, О.Л. Барбараш, И.И. Чукаева // БЭБМ - 1990. - Т. 109, № 4. - С. 334-336.
5. Клебанов Г.И. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения красного диапазона на активность супероксиддисмутазы макрофагов. / Г.И. Клебанов, Е.А. Полтанов, Ю.А. Владимиров // Биофизика - 2003. - Т. 48, № 3. - С. 462-473.
6. Клебанов Г.И. Изменение активности супероксиддисмутазы и содержания пероксинитрита в перитонеальных макрофагах, подвергнутых облучению He-Ne лазером. / Г.И. Клебанов, Е.А. Полтанов, Т.В. Чичук // Биохимия - 2005. - Т. 70, № 12. - С. 1335-1340.
7. Клебанов Г.И. Сравнительное исследование действия лазерного и светодиодного излучения на активность супероксиддисмутазы и продукцию оксида азота в раневом экссудате крыс. / Г.И. Клебанов, Н.Ю. Шураева, Т.В. Чичук // Биофизика - 2006. - Т. 51, № 1. - С. 116-122.
8. Клебанов Г.И. Сравнительное исследование действия лазерного и светодиодного излучения на перекисное окисление липидов в раневом экссудате крыс. / Г.И. Клебанов, Н.Ю. Шураева, Т.В. Чичук // Биофизика - 2006. - Т. 51, № 1. - С. 332-339.
9. Мачнева Т.В. Роль эндогенных порфиринов в эффектах низкоинтенсивного лазерного излучения красного диапазона на свободно-радикальные процессы в крови крыс при экспериментальном эндотоксическом шоке. / Т.В. Мачнева, Е. Буравлев, Н.Н. Булгакова // Биофизика - 2011. - Т. 56, № 4. - С. 705-713.
10. Bray R.C. Reduction and inactivation of superoxide dismutase by hydrogen peroxide. / R.C. Bray, S.A. Cockle, E.M. Fielden // The Biochemical journal - 1974. - Vol. 139, № 1. - P. 43-48.
11. Ewing J.F. Microplate superoxide dismutase assay employing a nonenzymatic superoxide generator. / J.F. Ewing, D.R. Janero // Analytical biochemistry - 1995. - Vol. 232, № 2. - P. 243-248.
12. Kashima-Tanaka M. Generation of free radicals and/or active oxygen by light or laser irradiation of hydrogen peroxide or sodium hypochlorite. / M. Kashima-Tanaka, Y. Tsujimoto, K. Kawamoto // Journal of endodontics - 2003. - Vol. 29, № 2. - P. 141-143.
13. Klebanov G.I. Changes in superoxide dismutase activity and peroxyntrite content in rat peritoneal macrophages exposed to He-Ne laser radiation. / G.I. Klebanov, E.A. Poltanov, T.V. Chichuk // Biochemistry (Mosc) - 2005. - Vol. 70, № 12. - P. 1335-1340.
14. Lissi E. Luminol luminescence induced by 2,2'-Azo-bis(2-amidinopropane) thermolysis. / E. Lissi, C. Pascual, M.D. Del Castillo // Free Radic Res Commun - 1992. - Vol. 17, № 5. - P. 299-311.
15. Lissi E. On the use of the quenching of luminol luminescence to evaluate SOD activity. / E. Lissi, C. Pascual, M.D. del Castillo // Free Radic Biol Med - 1994. - Vol. 16, № 6. - P. 833-837.
16. Lissi E., Evaluation of total antioxidant potential (TRAP) and total antioxidant reactivity from luminol-enhanced chemiluminescence measurements. / E. Lissi, M. Salim-Hanna, C. Pascual, M.D. del Castillo // Free Radic Biol Med - 1995. - Vol. 18, № 2. - P. 153-158.
17. Maral J. Comparative study of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase levels in erythrocytes of different animals. / J. Maral, K. Puget, A.M. Michelson // Biochemical and biophysical research communications - 1977. - Vol. 77, № 4. - P. 1525-1535.
18. McCord J.M. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte protein (hemocuprein). / J.M. McCord, I. Fridovich // J Biol Chem - 1969. - Vol. 244, № 22. - P. 6049-6055.

19. Popov I.N. Photochemiluminescent detection of antiradical activity. I. Assay of superoxide dismutase. / I.N. Popov, G. Lewin, R. von Baehr // *Biomedica biochimica acta* - 1987. - Vol. 46, № 11. - P. 775-779.

20. Vladimirov Y.A. Photoreactivation of superoxide dismutase by intensive red (laser) light. / Y.A. Vladimirov, E.A. Gorbatenkova, N.V. Paramonov, O.A. Azizova // *Free Radic Biol Med* - 1988. - Vol. 5, № 5-6. - P. 281-286.

21. Zhidkova T.V. Effect of nitric oxide and laser and LED radiation on mitochondrial respiration and membrane potential / T.V. Zhidkova, Y.A. Vladimirov // *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* - 2010. - Vol. 7, № 1. - P. 29.

22. Dunbar J.C. Kinetics of metal dissociation in the yeast Cu₂Zn₂-superoxide dismutase. Apparent asym-

metry in the metal binding sites. / J.C. Dunbar, T. Uchida // *Carlsberg Res. Commun.* - 1982. - Vol. 47, № 3. - P. 163-171.

23. Zhidkova T.V. Determination of superoxide dismutase and SOD-mimetic activities by a chemical system: Co₂/H₂O₂/lucigenin. / T.V. Zhidkova, E.V. Proskurnina, E.A. Parfenov, Y.A. Vladimirov // *Analytical and bioanalytical chemistry* - 2011. - Vol. 4, № 1. - P. 381-386.

24. Istomin N.P. Neutrophil and macrophage functional activity during the irradiation of an intestinal anastomosis with a low-intensity laser in the infrared spectral range. / N.P. Istomin, A.A. Nosov, V.G. Ratov, et al. // *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, i immunobiologii* - 1995. - № 3. - P. 102-105.

ПРО МЕХАНІЗМ АКТИВАЦІЇ СОД АКТИВНОСТІ ПРИ ДІЇ ЛАЗЕРНОГО І СВІТЛОДІОДНОГО ОПРОМІНЕННЯ НА КЛІТИНИ І ТКАНИНИ ЛЮДИНИ І ТВАРИН

*Владимиров Ю.А., Жидкова Т.В., Проскурніна Є.В., Ізмайлов Д.Ю.
Московський державний університет імені М.В.Ломоносова,
факультет фундаментальної медицини
Ломоносівський пр., будинок 31, корп. 5, Москва, 119192, Росія
тел.: +7(499)147-55-08, e-mail: yuvlad@mail.ru*

Збільшення активності захисного ферменту супероксиддисмутази (СОД) - один з найважливіших ефектів дії лазерного і світлодіодного випромінювання на клітини, тканини і цілий організм людини і тварин. Нами було проведено дослідження впливу рН, пероксиду водню і випромінювання на активність СОД із застосуванням трьох методів. Було показано, що активність Cu-Zn-СОД при зниженні рН падає тільки при рН нижче 4 і після цього не відновлюється при опроміненні світлом з довжиною хвилі 650 нм. Активність ферменту також знижувалася при рН 7 і 6 при інкубації ферменту в розчині з пероксидом водню. Однак опромінення зразків, інактивованих пероксидом водню, світлом з довжиною хвилі 650 нм викликало не відновлення, а подальше зниження активності СОД, що можна пояснити утворенням додаткової кількості радикалів з пероксиду водню при опроміненні. Таким чином, отримані дані не підтвердили гіпотезу про фотореактивацію СОД під дією червоного світла лазера.

Ключові слова: СОД, фотореактивація, хемілюмінесценція, світлодіодне випромінювання, лазерне випромінювання.

ABOUT ACTIVATION MECHANISM OF SOD ACTIVITY IN ACTION OF LASER AND LIGHT-EMITTING DIODE IRRADIATION OF CELLS AND TISSUES OF HUMAN AND ANIMALS

*Y. A. Vladimirov, T. V. Zhydkova, Y. V. Proskurnina, D. Y. Izmaylov
M.V.Lomonosov Moscow State University, Faculty of Fundamental Medicine
31-5 Lomonosovsky Prospekt, Moscow, 119192, Russia
tel.: +7(499)147-55-08, e-mail: yuvlad@mail.ru*

Increase of activity of protective enzyme of superoxide dismutase (SOD) is one of the most important effects of action of laser and light-emitting diode irradiation on cells, tissues and the whole organism of human and animals. We carried out the study of influence of pH, hydrogen peroxide and irradiation on activity of SOD with application of three methods. It was shown that activity of Cu-Zn-SOD at decrease of pH reduces only if pH is lower than 4 and after that does not restore in irradiation with light with the wave length of 650 nm. Enzyme activity also reduced at pH 7 and 6 in incubation of enzyme in the solution with hydrogen peroxide. However irradiation of samples which were inactivated by hydrogen peroxide, light with the wave length of 650 nm caused not recovery but further reduce of SOD activity. It can be explained by formation of additional amount of radicals of hydrogen peroxide at irradiation. Thus the received data did not confirm the hypothesis about photoreactivation of SOD under action of red light of laser.

Keywords: SOD, photoreactivation, chemoluminescence, laser irradiation, light-emitting diode irradiation.