

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования «Национальный исследовательский Нижегородский
государственный университет им. Н.И. Лобачевского»**

**А.В. Дерюгина
М.Н. Иващенко
М.Н. Таламанова**

**ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ
СТРЕСС-РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА**

Методические рекомендации

**Рекомендовано методической комиссией Института биологии и биомедицины
для студентов и аспирантов ННГУ, обучающихся по направлениям подготовки
06.03.01, 06.04.01 «Биология», 05.03.06 «Экология и природопользование»,
06.06.01 «Биологические науки»**

**Нижний Новгород
2023**

УДК 57.021
ББК 28.707.3
Д 27

Дерюгина А.В., Иващенко М.Н., Таламанова М.Н. Действие низкоинтенсивного лазерного излучения при стресс-реакции организма. Методические рекомендации. – Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2023. – 31 с.

Рецензент д.б.н., проф. Е.Б. Романова

Методические рекомендации содержат теоретические сведения о стресс-реакции организма, основных стресс-реализующих системах и процессах развития окислительного стресса, как типового процесса большинства стресс-реакций организма. Представлены механизмы действия низкоинтенсивного лазерного излучения на организм и показаны его адаптогенные эффекты. Собственные исследования наглядно иллюстрируют эффективность использования низкоинтенсивного лазерного излучения в нивелировании технологического стресса у коров. Предложены рекомендации производству.

Данные методические рекомендации предназначены для студентов и аспирантов, обучающихся по направлениям подготовки 06.03.01, 06.04.01 «Биология», 05.03.06 «Экология и природопользование», 06.06.01 «Биологические науки».

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 22-26-00311.

Ответственный за выпуск:
председатель методической комиссии Института биологии и биомедицины
ННГУ, к.б.н., доц. **Е.Л. Воденеева**

УДК 57.021
ББК 28.707.3
© Нижегородский государственный
университет им. Н.И. Лобачевского, 2023
© Дерюгина А.В., Иващенко М.Н.,

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
1. Теоретические представления о стресс-реакции организма	5
2. Окислительный стресс	11
3. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на организм	17
4. Характеристика экспериментального материала	20
Список литературы	27

Введение

Существенное влияние на состояние здоровья организма оказывают стрессовые реакции. Приоритетом является эффективное управление стрессовой реакцией и сведение ее к минимальному оказываемому воздействию, что, в значительной степени, зависит от способности идентифицировать и количественно оценить эффекты различных стрессовых факторов и вклад отдельных или комбинированных стрессоров на проявление различных биологических последствий. Кроме того, важно определить длительность стресс-индуцированных биологических эффектов, поскольку различные стадии стресс-реакции могут вызывать различное изменение метаболизма и на определенных этапах увеличивать резистентность организма или, напротив, повышать восприимчивость к болезни. Существуют общие этапы развития стресс-реакции, которые рассматриваются в данных методических рекомендациях. Разбирается механизм, с помощью которого организм реагирует на стрессовое воздействие, и который был предложен основоположником теории стресса Гансом Селье как «неспецифический ответ организма на некоторое предъявленное требование к нему». Г. Селье определил три стадии общего адаптационного синдрома. Первый этап – стадия тревоги. Вторым этапом является сопротивление или адаптации организма, направленная на приспособление к действующему стимулу. Последним этапом, если стресс сохраняется, является стадия истощения, когда приобретенная адаптация теряется, что, в конечном итоге, может приводить к болезни. При развитии стресс-реакции выделяют две разные оси сигнализации, которые вызывают интегрированные физиологические реакции на воздействие стресс-факторов, что так же отображено в данных рекомендациях.

В методических рекомендациях разобрано развитие окислительного стресса как типового процесса большинства стресс-реакций организма.

Отдельная глава посвящена действию низкоинтенсивного лазерного излучения (НИЛИ) на организм и показаны его адаптогенные эффекты. В качестве наглядной иллюстрации действия НИЛИ на организм крупного рогатого скота в отдельной главе представлено исследование влияния НИЛИ на биохимические показатели крови коров, их молочную продуктивность и качественные показатели молока при технологическом стрессе. Выявлено, что воздействие НИЛИ после технологического стресса способствует ограничению стресс-реакции, восстановлению биохимических показателей и увеличению молочной продуктивности, повышая массовую долю белка и лактозы. Определены оптимальные режимы действия НИЛИ, что нашло отражение в рекомендациях производству.

Данное методическое издание может использоваться в курсах для бакалавриата «Основы экологической физиологии человека и животных», «Физиология обмена веществ», магистратуры «Эндокринология», «Клеточная физиология», аспирантуры «Экологическая физиология», «Нейрогуморальная регуляция гомеостаза».

1. Теоретические представления о стресс-реакции организма

Стресс – неспецифический ответ (неспецифический компонент ответа) живой системы на экстремальные стимулы различной природы, исходящие как извне, так и изнутри системы и угрожающие нарушением ее гомеостаза. Первоначально Г. Селье характеризовал стресс как "неспецифический ответ организма на некие требования к нему", приобретающий форму общего адаптационного синдрома, с участием вегетативной (автономной) и эндокринной систем. В своей статье Г. Селье в 1936 г. дает такое определение: "Если организм поврежден острым неспецифическим вредоносным агентом (холод, хирургическая операция, спинальный шок, мышечное напряжение, интоксикация), возникает типичный синдром, симптомы которого независимы от природы повреждающего агента". Очевидно, что с самого начала стресс рассматривался как реакция, присущая целостному организму, к тому же обладающему развитыми системами регуляции. Близкое определение дает П.Г.Горизонтов, подразумевая под стрессом "общую неспецифическую нейрогормональную реакцию, возникающую в организме в условиях, угрожающих нарушением гомеостаза". По мнению М.Р.Астерита стресс – это общий неспецифический ответ, индуцированный в биологической системе специфическими агентами и синдромами. Здесь стресс рассматривается уже как универсальная реакция живых систем. Стресс-ответ, по G.Huether, действует как триггер адаптивной модификации структуры и функции мозга высших позвоночных, способствующий их упорядочению.

Г. Селье выдвинул представление о дистрессе и эустрессе. В большинстве стрессовых ситуаций, при действии стрессоров с положительной эмоциональной окраской и кратковременно действующих слабых или умеренных стрессоров, на стадии резистентности достигается полнота ответа и далее совершенствование адаптации. Для этого типа стресса Г. Селье предложил термин "эустресс" (рис. 1.А). Действие тяжелых и продолжительных стрессов, с резко отрицательной эмоциональной оценкой и возможными нежелательными последствиями характеризуется как "дистресс" (рис. 1.Б).

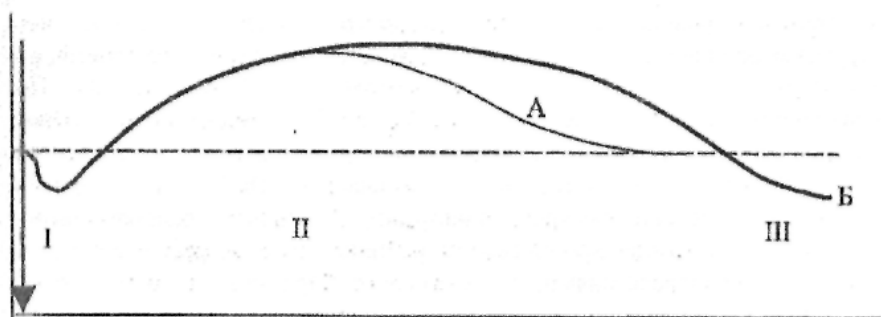


Рис. 1. Динамика резистентности организма в зависимости от стадии и тяжести стресса (Selye, 1983)

----- уровень резистентности в покое, ↓ – действие стресс-агента, А – эустресс, Б – дистресс, I – стадия тревоги (alarm), II – стадия резистентности, III – стадия истощения

По справедливому замечанию Селье, избегать и бороться следует с дистрессами, тогда как эустрессы не только не вредны, но бесспорно полезны и даже необходимы для поддержания оптимальной функции органов и, в частности, для профилактики дистрессов, предотвращения их тяжелых последствий. Стресс может рассматриваться как предвестник болезни, необходимое, но недостаточное ее условие, которое реализуется (или не реализуется) в болезнь по исчерпанию резервов, защитных ресурсов организма. С другой стороны, стресс – это первая стадия адаптации организма к изменившимся внешним и/или внутренним условиям существования. Стресс является следствием нарушения предшествующей адаптации в результате возникновения новой, изменившейся ситуации и в то же время шагом к формированию новой адаптации.

Из бесчисленного множества воздействующих факторов среды стрессогенными являются лишь те, которые отличаются *новизной*, *силой* и/или *длительностью* действия, выходят за пределы нормы реакции (экстремальные агенты). Стрессоры различают *механические*, *физические* (барометрическое давление, парциальное давление кислорода pO_2 и углекислоты pCO_2 , осмос, температура выше и ниже оптимума для организма, УФ- и ионизирующее излучение, радионуклиды, изменения гравитации, плотности, вязкости, солености, пищи и отдельных ее компонентов – голодание, недостаток питьевой воды), *химические* (яды, интоксикации экзо- и эндогенные, канцерогены, недостаток или избыток витаминов); *биологические* (болезнетворные вирусы, микробы, аллергены); *психоэмоциональные* (физическое или умственное переутомление, необходимость решения сложных задач в короткое время, боль, отрицательные эмоции – горе, тоска, страх, тревога, гнев, обида, ненависть, отчаяние) и *психосоциальные* (психологические стрессы, вызванные интенсивными социальными взаимодействиями или их отсутствием – гибель близких, развод, потеря работы, жилища, одиночество, страх и опасения за жизнь детей, конфликты в быту и на работе, отлучение ребенка от груди).

Все стресс-агенты, при всем их разнообразии, вызывают стереотипную неспецифическую ответную реакцию, разумеется, с второстепенными различиями и особенностями, обусловленными различиями стрессоров. Биологический смысл и назначение стресса – повысить общую сопротивляемость, неспецифическую устойчивость живой системы по отношению к действующему стимулу и другим стрессорам.

Первая стадия стресса, по Г.Селье, состоит из двух фаз – шока и противошока. Первая, немедленная, обусловлена выбросом "аварийных" гормонов катехоламинов (КА). Вторая (фаза отраженной реакции) – характеризуется дальнейшим ростом секреции КА, выбросом глюкокортикоидных гормонов (ГК) и вовлечением внеорганизменных потребностей, необходимых для поддержания **реакции тревоги**.

Вторая стадия стресса – стадия повышенной **резистентности**. На этой стадии симптомы реакции тревоги угасают, артериальное давление, пульс,

дыхание нормализуются, возрастает анаболическая активность, кровь разжижается, достигается состояние равновесия в присутствии стрессора. Стадию резистентности следует признать состоянием организма, при котором преобладают не стрессорные, а приспособительные адаптационные реакции. Продолжение или прекращение действия слабого стрессора означает выход из состояния стресса. Повторное действие слабых стрессов ускоряет процесс их преодоления, тренирует защитные механизмы, может даже несколько расширить зону нормы реакции (эффект гормезиса).

Истинно стрессорные реакции преобладают на стадии тревоги. Многообразие процессов, происходящих на первой стадии общего адаптационного синдрома (ОАС) позволило выделить 4 фазы этого процесса: 1 – катаболическая (возбуждение рецепторов адренергических и дофаминергических структур, щитовидной железы, выделение липотропина, глюкагона), 2 – переходная (блокада вышеуказанных рецепторов и уменьшение выделения гормонов щитовидной железы, липотропина и глюкагона), 3 – анаболическая (возбуждение рецепторов холинергических, серотонинергических и других структур, выделение адрено-кортикотропного гормона (АКТГ), инсулина, эндорфинов, энкефалинов), 4 – эффекторная (восстановление гомеостаза, синтез белков, иммунные реакции, адаптация, тренированность или патология). Эти процессы приводят в последующем к повышению резистентности организма к стресс-фактору и функционированию органов и систем на должном для этой ситуации уровне, если позволяют резервные возможности.

Если живая система не адаптируется к действию стрессора (из-за его силы, продолжительности действия или качественного своеобразия, препятствующего полноте адаптации) процесс неизбежно вступает в третью стадию – **истощения**. Наблюдается возврат большинства симптомов первой стадии.

В формировании стресс-реакции принимает участие нервная и эндокринная системы. Нервная система первой включается в ответную реакцию организма, в то время как эндокринная может обеспечивать длительное протекание определённых биохимических процессов.

Ведущими системами организм, обеспечивающими устойчивость организма к стрессору являются симпато-адреналовая (САС) и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая системы (ГГНС).

Симпато-адреналовая система включает симпатический отдел нервной системы и мозговой слой надпочечников и другие скопления хромоаффинных клеток. САС может оказывать регулирующее влияние как через симпатическую иннервацию органов, так и, через действие гормонов (норадреналин, адреналин), вырабатываемых мозговым веществом надпочечников.

Основным гормоном ГГНС у человека является кортизол, у грызунов кортикостерон. В гипоталамусе к ГГНС относятся перивентрикулярные ядра, расположенные на дне третьего желудочка. Аксоны мелких нервных клеток

ядер в составе туберо-инфундибулярного тракта образуют контакты с первичной капиллярной сетью портальной системы гипофиза в области срединного возвышения серого бугра гипоталамуса. В таких контактах терминаль нейросекреторной клетки контактирует с базальной мембраной периваскулярного пространства, через которую и происходит проникновение в кровь кортикотропин- рилизинг-фактора (КРФ). КРФ стимулирует АКТГ, который составляет часть полипептида проопиомеланокортина (ПОМК), синтезирующегося в кортикотрофах передней доли. КРФ вызывает специфический процессинг ПОМК, содержащего кроме АКТГ последовательности, соответствующие β -эндорфину и меланоцитстимулирующему гормону (МСГ). Показано, что вазопрессин может потенцировать действие КРФ на синтез и высвобождение АКТГ. Кроме того, вазопрессин обладает собственной рилизинг активностью, хотя и более слабой, чем КРФ. Если КРФ обеспечивает высвобождение накопленного АКТГ, то вазопрессин – вновь синтезированного. АКТГ контролирует продукцию глюкокортикоидов и андрогенов в коре надпочечников путем активации семейства функционально-смешанных оксидаз, являющихся специфическими цитохромами P-450. Оксидазы катализируют большинство реакций биосинтеза стероидных гормонов из предшественника холестерина.

Главную роль в мобилизации резервов углеводов организма в первую фазу стресса играют САС и глюкагон за счет прямой активации гликогенолиза и гликолиза через аденилатциклазную систему в печени, скелетных мышцах и сердце. При этом катехоламины выделяются на самом раннем этапе стресса, а глюкагон несколько позже и как бы дублирует и подкрепляет эффекты катехоламинов. Этот эффект может играть роль в условиях, когда действие катехоламинов реализуется полностью при десенситизации β -адренорецепторов избытком катехоламинов, тогда активация аденилатциклазы осуществляется через глюкагоновые рецепторы и глюкоза поступает прямо из депо в кровь. Другим источником глюкозы является глюкоза, возникающая под влиянием глюкокортикоидов и, в известной степени, под влиянием паратгормона. Активация глюконеогенеза в печени и скелетных мышцах, а при сильных стрессах и в почках. При этом глюкокортикоиды через свои внутриклеточные рецепторы стимулирует синтез ферментов глюконеогенеза: глюкозо-6-фосфатазы, фосфоэтанолпируваткарбокскиназы и других.

При стрессе катехоламины и глюкагон через аденилатциклазную систему активируют липазы и липопротеинлипазы в жировой ткани, скелетных мышцах и сердце. В гидролизе триглицеридов плазмы крови, по-видимому, играют роль паратгормон и вазопрессин, секреция которых при стрессе значительно возрастает. Освободившийся таким образом фонд жирных кислот используется в сердце и скелетных мышцах.

В фазу тревоги стресса увеличивается соотношение глюкагон/инсулин (в результате снижения секреции инсулина и увеличения продукции глюкагона), что, с одной стороны, способствует активации глюконеогенеза в

печени, а с другой стороны ограничивает утилизацию глюкозы тканями. В этих условиях определенное преимущество в снабжении глюкозой получают те органы и ткани, в которых адаптивно увеличен кровоток. В фазу тревоги идет направленная передача энергетических и структурных ресурсов из неактивных систем в функционирующую систему, осуществляющую адаптивную реакцию. Кровоснабжение данной системы увеличивается, и она преимущественно снабжается кислородом и субстратами. Главная роль в этом эффекте стресс-реакции принадлежит катехоламинам, вазопрессину и ангиотензину II. Глюкокортикоиды стимулируют неогликогенез, обеспечивающий организм запасами готовой к использованию энергии, необходимой для адаптации. В стадии резистентности повышается также уровень секреции гормона роста и минералокортикоидов. На стадии истощения происходит уменьшение ресурсов глюкокортикоидов надпочечников, неспецифическая сопротивляемость снижена, и организм не способен уже сопротивляться воздействию извне, что и приводит иногда к его гибели.

Избыточную активацию стресс-реализующих систем ограничивают стресс-лимитирующие системы. Они делятся на центральные: ГАМК-ергическая система, система бензодиазепиновых рецепторов, опиоидергическая, серотонинергическая, дофаминергическая и другие системы головного мозга и локальные стресс-лимитирующие системы, действующие преимущественно на уровне органов-мишеней: простагландины, антиоксиданты, аденозин и т.д.

Активация ведущих стресс-реализующих систем (САС, ГГНС) может происходить различными путями в зависимости от особенностей стресса. Так, эмоциональный стресс человека запускается в результате гиперактивности эмоциогенных зон, активирующих САС, ГГНС. Морфофункциональным субстратом эмоций является лимбико-ретикулярные структуры мозга. В иммунном стрессе (травмы, инфекционные процессы) существенный вклад вносят в развитие стресс-реакции синтезированные макрофагами в очаге воспаления интерлейкин-I (ИЛ-I). ИЛ-I способен индуцировать секрецию АКТГ либо за счет прямого действия на гипофиз, либо за счет стимуляции КРФ. В обоих случаях это приводит к секреции глюкокортикоидов, которые угнетают продукцию ИЛ-I. Кроме того, при иммунном стрессе (особенно вирусных инфекциях) играет выработка лимфоцитами АКТГ.

При длительных или многократных стрессовых воздействиях увеличивается мощность стресс-лимитирующих систем и формируется «феномен адаптационной стабилизации структур» (ФАСС), который проявляется в высокой устойчивости внутриклеточных структур к неблагоприятным воздействиям. Предполагают участие данного феномена в развитии резистентности к повреждающим факторам и при других неспецифических реакциях (тренировка, активация). Развитие ФАСС связано с накоплением в клетках белков теплового шока, синтез которых значительно возрастает после длительных многократных стресс-воздействиях. Усиление

синтеза белков теплового шока инициируется катехоламинами и кортикостероидами. В норме белки теплового шока являются шаперонами (обеспечивают правильную укладку полипептидной цепи вновь синтезируемых белков), а при стрессе осуществляют неспецифическую защиту белков клетки от денатурационных изменений, энергозависимое восстановление структуры частично денатурированных белков или сопровождение необратимо денатурированных белков в лизосомы для их последующего протеолиза

2. Окислительный стресс

Обязательным атрибутом практически любого стрессового воздействия на организм является активация процессов свободнорадикального окисления. В роли повреждающих агентов выступают активные формы кислорода (АФК), которые являются эффективным инструментом локального действия за счет высокой реакционной способности. В живых организмах существует два источника АФК: радикальные окислительные реакции и металлопротеиновые ферментативные системы, то есть АФК являются продуктами ферментативных и неферментативных метаболических процессов, протекающих в организме.

Источники активных форм кислорода (по материалам Bauer V., Bauer F.):

Ферментативные

<i>Ксантинооксидаза</i>	$\text{Гипоксантин} + \text{O}_2 = \text{ксантин} + \text{O}_2^- + \text{H}_2\text{O}$
<i>НАДФН-оксидаза</i>	$\text{НАДФН} + \text{O}_2 = \text{НФДФ}^+ + \text{O}_2^-$
<i>Пероксидазы</i>	Образование гипогалоидов $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{X}^- + \text{H}^+ = \text{HOX} + \text{H}_2\text{O}$
<i>НАДФ-оксидаза</i>	$\text{E-Fe}^{3+} + \text{ROOH} = \text{РОН} + \text{соединение I}$ соединение I + НАДФ = НАД + соединение II соединение II + НАДФ = НАД + E-Fe^{3+} $\text{НАД} + \text{O}_2 = \text{НАД}^+ + \text{O}_2^-$
<i>Альдегидоксидаза</i>	$\text{R-CHO} + \text{O}_2 = \text{R-COOH} + \text{O}_2^-$
<i>Дигидрооротатдегидрогиназа</i>	$\text{Дигидрооротат} + \text{НАД} + \text{O}_2 = \text{НАДН} + \text{O}_2^- + \text{оротовая кислота}$

Неферментативные

$\text{Fe}^{2+} + \text{O}_2 = \text{Fe}^{3+} + \text{O}_2^-$
$\text{Hb-Fe}^{2+} + \text{O}_2 = \text{Hb-Fe}^{3+} + \text{O}_2^-$
Катехоламины + $\text{O}_2 = \text{Меланин}^+ + \text{O}_2^-$
Флавины в восстановленной форме
Лейкофлавины + $\text{O}_2 = \text{Флавиновый семихинон} + \text{O}_2^-$
Коэнзим О-убихинол (hydroquinone) + $\text{O}_2 = \text{Коэнзим О-убихинон (ubiquinone)} + \text{O}_2^-$
Тетрогидроптерин + $2 \text{O}_2 = \text{Дигидроптерин} + 2 \text{O}_2^-$

Основными АФК являются супероксидный анион-радикал, гидроксильный радикал, перекись водорода, синглетный кислород, гипогалоиды (окисленные галогены) – HOCl , HOBr , HOI , гипохлориды (ClO^-), пероксид (O_2^{2-}), пероксильный (алкилдиоксил) (RO_2) и алкоксильный (RO) радикалы, оксид азота (NO_2), пероксинитрит (ONOO^-). Наиболее токсичными формами являются супероксид-анион радикал O_2^- , а также продукт его взаимодействия с перекисью водорода – гидроксил-радикал OH^\cdot . O_2^- и H_2O_2 относятся к наиболее стабильным соединениям и могут диффундировать через мембраны путем простой диффузии или через анионные каналы.

В физиологических концентрациях АФК, являясь вторичными мессенджерами, участвуют в работе регуляторных систем, с которыми связана функциональная активность клеток и их жизнедеятельность: метаболизм белков, липидов, углеводов и нуклеиновых кислот; синтез биологически

активных соединений, биогенных аминов, процессы фагоцитоза, апоптоза, а также обезвреживание ксенобиотиков и регуляция физико-химического состояния мембраны. При тяжелом и значительном напряжении защитных систем клеток количество АФК возрастает настолько, что обуславливает развитие окислительного стресса. Окислительный стресс участвует в развитии практически всех заболеваний в качестве ключевого звена патогенеза или существенно отягощает течение любой патологии.

Можно выделить четыре мишени окислительной цитотоксической атаки АФК: индукция процессов ПОЛ в биологических мембранах, повреждение мембрансвязанных белков, инактивация ферментов и повреждение ДНК клеток.

ПОЛ – сложный цепной процесс окисления кислородом и его активными формами липидных субстратов. Процессы ПОЛ постоянно происходят в организме и обеспечивают обновление состава и поддержания функциональных свойств биомембран. Возникающие перекиси липидов лучше растворяются в воде и поэтому легче вымываются из мембран, способствуя самообновлению мембранных структур. Через стадию перекисных производных ненасыщенных жирных кислот осуществляется биосинтез простагландинов, лейкотриенов и тромбоксанов. Образование гидроперекисей холестерина – одно из звеньев в синтезе некоторых стероидных гормонов, в частности, прогестерона.

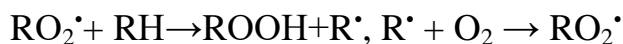
При ПОЛ окислительным превращениям подвергаются полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), нейтральные жиры и холестерин. Атака кислородными радикалами полиненасыщенных цепей жирных кислот приводит к образованию гидрофобных радикалов, взаимодействующих друг с другом. Основными субстратами реакции является ФЭА. ФЛ с перекисноокисленными жирнокислотными остатками являются более предпочтительным субстратом для фосфолипазы А₂, чем нормальные неокисленные фосфолипиды. В результате образуются лизофосфолипиды.

Перекисное окисление может включать стадии ферментативного аутоокисления и ферментативные реакции. Ферментативный и ферментативный пути ПОЛ приводят к образованию свободных радикалов липидов по нескольким основным этапам:

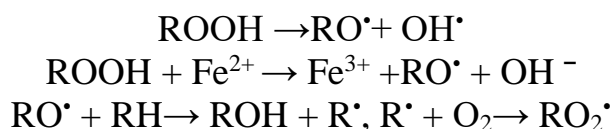
инициирование (зарождение цепи)



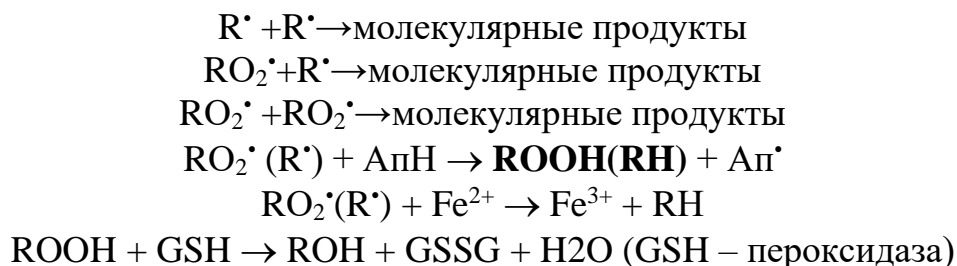
продолжение цепи



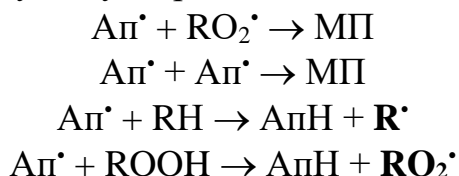
разветвление цепи



обрыв цепи



В процессах ПОЛ присутствуют реакции антиоксидантных радикалов:



где RH – субстрат окисления (полиненасыщенные жирные кислоты), АпН – антиоксидант; R^{\bullet} – липидный алкильный радикал, RO^{\bullet} – алкоксильный радикал, RO_2^{\bullet} – липидный пероксидный радикал, ROOH – гидроперекись липида, Ап^{\bullet} – радикал антиоксиданта; GSH, GSSG – восстановленный и окисленный глутатион.

На первых стадии процесса образуются диеновые конъюгаты жирных кислот $R-CH = CH - CH = CH_2$. Из образовавшихся диеновых конъюгатов при дальнейшем воздействии на них гидроксильных радикалов образуются гидроперекиси липидов. В местах присоединения перекисных радикалов жирные кислоты разрываются на фрагменты, на краях которых расположены альдегидные группы, обладающие высокой реакционной способностью. Если разрыв произошел с двух сторон, образуется МДА $HC=O - CH_2 - C=OH$. Реагируя с SH и CH_3 -группами белков, МДА подавляет активность ферментов, а при взаимодействии с аминокислотами образуются соединения типа шиффовых оснований, которые являются реакционно-способными и могут производить межмолекулярные «сшивки».

В результате разветвления цепной реакции ПОЛ образуются продукты как радикальной, так и молекулярной природы. Промежуточные продукты радикальной природы, не стабильны, к ним относятся АФК, алкильные, алкоксильные, пероксильные радикалы. Молекулярные продукты ПОЛ принято делить на первичные (гидроперекиси, диеновые конъюгаты (ДК), эндоперекиси), образующиеся на стадии продолжения цепи, вторичные (карбонильные продукты: алканали, алкенали, гидросиалкенали, малоновый диальдегид (МДА), триеновые конъюгаты (ТК)), образующиеся при повторной атаке АФК в процессе окислительной деструкции липоперекисей липидов; и конечные, которые образуются в результате реакций взаимодействия вторичных продуктов с физиологически важными аминами (аминокислотами, белками и белковыми компонентами фосфолипидов, нуклеотидами, гормонами и витаминами) образуют полимерные соединения – основания Шиффа (ОШ). В

норме ОШ немного, они способствуют прочности мембраны, связывают белки и липиды между собой. Одним из конечных продуктов ПОЛ является насыщенные низкомолекулярные углеводороды (этан, гексан, пентан), которые в нормальных условиях переходят в газообразное состояние.

Перекисное окисление липидов является важным фактором обновления состава компонентов мембран, модификации их функции и перехода клетки из одного функционального состояния в другое. Одним из проявлений физиологической активации ПОЛ является увеличение проницаемости мембраны для Ca^{2+} при одновременной инактивации Ca^{2+} -АТФазы, ответственной за удаление Ca^{2+} из цитоплазмы и расслабление миокарда. Показано, что данное изменение активности фермента, способствующее улучшению сократительной функции сердечной мышцы, происходит именно за счет накопления гидроперекисей фосфолипидов (прежде всего, первичных молекулярных продуктов ПОЛ). Перекисные продукты могут оказывать активирующее воздействие на циклооксигеназу, играя важную роль в кинетике ферментативного каскада реакций, способствующих образованию простагландинов. Снижение активности ПОЛ стимулирует жидкокристаллическое состояние липидов, тогда как ее нарастание придает рассматриваемой фазу большую ригидность, что приводит к изменению активности мембраносвязанных липид-зависимых ферментов (аденилатциклазы, фосфодиэстеразы, Na^+K^+ -АТФазы. Продукты окисления липидов в концентрациях, превышающих физиологический уровень способны оказывать сильное токсическое действие, оказать негативное влияние на функционирование и структурную целостность клеточных и субклеточных мембран.

Дезорганизация липидов, являющихся субстратом перекисного окисления липидов (ПОЛ) и ферментативного гидролиза, закономерно приводит к утрате клетками способности поддерживать ионный гомеостаз и окислительно-восстановительный потенциал, нарушению работы мембрансвязанных энзимов

Процесс ПОЛ играет роль механизма, обеспечивающего доступность липидно-белковых компонентов мембран клеток соответственно для фосфолипаз и протеаз. Отмечается уменьшение уровня макроэргов, накопление в клетках ионов Ca^{2+} , так как снижение уровня аденозинтрифосфата (АТФ) приводит к выключению ионных насосов и поступлению ионов кальция из межклеточной среды, а также активация мембраносвязанных фосфолипаз, гидролиз части фосфолипидов с образованием лизоформ, увеличение проницаемости мембран.

В результате нарушения окислительно-восстановительных процессов накапливаются продукты промежуточного обмена, в том числе молочная кислота, окси-, кетокислоты и развивается ацидоз.

Свободные радикалы липидов взаимодействуют с сульфгидрильными группами белков, что приводит к инактивации белков, ион-транспортных

ферментов, в активный центр которых входят тиоловые группы, в первую очередь Na^+/K^+ и Ca^{2+} -АТФаз. Их инактивация приводит к дезорганизации транспортных механизмов переноса ионов.

Продукты ПОЛ (МДА, 4-гидрокси-2-алкеналы, 4,5-эпокси-2-алкеналы) активно влияют на функциональную активность и структуру белков. Липидные радикалы, а также 4-гидроксиноненаль и МДА, могут атаковать молекулы белков и НК, при этом альдегидные группы этих соединений образуют межмолекулярные сшивки, что сопровождается нарушением структуры макромолекул и дезорганизует их функционирование.

Нарастание активности ПОЛ способствует образованию токсических интермедиатов и высвобождению из клетки кислых протеаз, которые запускают процессы окислительной модификации белков (ОМБ).

Окислительное действие АФК приводит к трем вариантам изменения физико-химических свойств белков: фрагментации, агрегации и подверженности протеолизу.

При агрегации образуются ковалентносвязанные белковые формы в виде димеров, тримеров, тетрамеров. 90% агрегатов образуется за счет битирозинообразования. Битирозин представляет ковалентный бифенол, возникший в результате реакции радикалов двух тирозинов или тирозила и тирозина через бифенольные компоненты. Менее 10 % белков образуют агрегаты за счет дисульфидных или нековалентных связей.

Фрагментация белков сопровождается образованием низкомолекулярных фрагментов, 98% которых имели молекулярную массу менее 5 тыс. дальтон. Процесс фрагментации белка под влиянием АФК связан с отщеплением H^+ от карбонильной группы аминокислот за счет OH^\bullet и образованием при взаимодействии с $^{\bullet}\text{OO}^\bullet$ и $^1\text{O}_2$ перекисных соединений.

Специфика окислительной модификации белков определяется особенностью аминокислотного состава, структурной организацией биомолекул и интенсивностью процессов генерации АФК. Окислению АФК в первую очередь подвергаются SH-содержащие группы белков. При высокой скорости образования АФК все аминокислотные остатки белков подвергаются окислению, а при действии металлкатализируемой системы затрагиваются в основном те участки белковой молекулы, которые осуществляют связь белка с металлом переменной валентности.

Сдерживание окислительного процесса в клетках, развивающегося в результате накопления продуктов ПОЛ и окислительной модификации белков, обеспечивает антиоксидативный процесс за счет мобилизации резервов эндогенных ферментных и низкомолекулярных антиоксидантов, а также «структурного антиоксиданта», обусловленного относительным содержанием легкоокисляемых липидов (фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол) и липидов, резистентных к окислению (фосфатидилхолин, сфингомиелин, холестерин), в эритроцитарной мембране, а также особенностями организации ее липидного бислоя. Антиоксиданты имеют

подвижный атом водорода, в связи с чем активно вступают в реакцию со свободными радикалами, а также катализаторами свободнорадикального окисления и, прежде всего, с ионами металлов переменной валентности. Подвижность атома водорода обусловлена нестойкостью его связи с атомами углерода (C-H) или серы (S-H). В результате взаимодействия возникают малоактивные радикалы самого антиоксиданта, которые не способны к продолжению роста цепи. Гидроперекиси под действием серосодержащих соединений (без диссоциации) разлагаются на активные радикалы, формируются комплексоны с металлами переменной валентности. Образующиеся свободные радикалы антиоксидантов малоактивны и выводятся из организма в молекулярной форме – в виде продуктов взаимодействия с другими антиоксидантами (токоферолами, хинонами, витаминами группы К, серосодержащими соединениями) Важно отметить, что некоторые антиоксиданты обладают не обрывающим, а замедляющим рост цепи действием.

3. Влияние низкоинтенсивного лазерного излучения на организм

Лазерное излучение характеризуется рядом специфических свойств – монохроматичностью, поляризованностью, когерентностью. Большой диапазон интенсивности и длин волн излучения позволяет изменять характер воздействия на биологические объекты от стимулирующего и терапевтического (10^{-3} Вт/см²) до взрывного, сопровождающегося тепловыми (коагуляция), электромагнитными и акустическими процессами и ионизацией (10^7 Вт/см²). В лазеротерапии применяются световые потоки низкой интенсивности, не более 100 мВт/см². Основой механизма взаимодействия низкоэнергетического лазерного излучения с биообъектом являются фотофизические и фотохимические реакции, связанные с резонансным поглощением тканями света и нарушением слабых межмолекулярных связей, а также восприятие и перераспределение эффекта лазерного облучения жидкими средами организма. При этом происходят следующие процессы и реакции. На атомно-молекулярном уровне: поглощение света тканевым фотоакцептором; внешний фотоэффект; электролитическая диссоциация ионов; электронное возбуждение; появление первичных фотопродуктов. На клеточном уровне: изменение энергетической активности клеточных мембран; активация ядерного аппарата клеток, системы ДНК-РНК-белок; увеличение образования макроэргов (АТФ); увеличение митотической активности клеток. Биолого-медицинские эффекты излучения существенно зависят от режима воздействия.

Молекулярно-клеточные механизмы действия НИЛИ связаны с различными сторонами общего ответа организма на разных уровнях его реализации.

Низкоэнергетическое лазерное воздействие нарушает слабые взаимодействия атомов и молекул облученного вещества (ионные и ион-дипольные, водородные и гидрофобные связи), при этом появляются свободные ионы, т.е. происходит электролитическая диссоциация. Дальнейшая миграция и трансформация энергии электронного возбуждения тканей биообъекта при лазерном воздействии запускает ряд физико-химических процессов в организме. Образование электронных возбужденных состояний приводит к изменению энергетической активности клеточных мембран, к конформационным изменениям жидкокристаллических структур, к образованию продуктов фотолиза, к изменению рН среды, что, в свою очередь, является пусковым моментом целого комплекса биофизических и биохимических процессов.

Повышение энергетической активности биологических мембран, которые принимают очень важное участие во всех функциях клетки, приводит к изменению биоэлектрических процессов, к увеличению активности транспорта веществ через мембрану, усиливаются основные биоэнергетические процессы, в частности окислительное фосфорилирование. Под действием низкоэнергетического лазерного излучения изменяется форма двойного

липидного слоя клеточной мембраны, что приводит к переориентировке головок липидов.

Неспецифическое действие НИЛИ на структуру молекул воды и изменение ее физико-химических характеристик. Вследствие чего изменяется структура гидратных оболочек белков и других биополимеров. Неспецифическое влияние на биополимеры; приводит к изменению заряда белков, их конформационного строения и функционального состояния, и в итоге – к изменению процессов, в которых эти белки участвуют.

Реактивация металлосодержащих ферментов – антиоксидантов. Акцептором излучения, способным поглощать свет с его длиной волны излучения (632,8 нм), могут быть железо- и медьсодержащие ферменты, такие как СОД, каталаза, участвующие в антиокислительных процессах. Взаимодействие НИЛИ с молекулами-акцепторами, спектр поглощения которых совпадает со спектром излучения лазера: церрулоплазмин, а также гемоглобин, меланин, рибофлавин и цитохромоксидаза, поглощая энергию лазерного излучения, акцепторы запускают регулируемые ими биохимические процессы.

НИЛИ вызывает локальное кратковременное повышение температуры на границе различных биологических структур. Разница температуры более выражена на биологических мембранах. Это, в свою очередь, ведет к термодинамическим изменениям как в группе хромофоров непосредственно, так и в окружающих областях, что приводит к существенным изменениям свойств молекул. Температурный градиент вызывает изменение электрохимического ионного баланса.

Со стороны системы крови наблюдаются следующие явления: изменение агрегационных и адгезивных свойств клеток крови, пролиферация клеток. В эритроцитах наблюдается увеличение каталазы, супероксиддисмутазы (СОД) и других природных антиоксидантов вследствие взаимодействия лазерного луча с их активными центрами, следовательно, повышается потенциал антиокислительной системы и уменьшается патогенный эффект перекисного окисления липидов на клеточных мембранах, повышается скорость кровотока, в процессе облучения в патологической ткани увеличивается число функционирующих капилляров и новых коллатералей, улучшается микроциркуляция.

На уровне целого организма с действием НИЛИ связаны следующие клинические эффекты: противовоспалительный, обезболивающий, противоотечный, регенераторный, иммунокорректирующий, бактерицидный и бактериостатический. Лазерное излучение обладает уникальными терапевтическими возможностями, действуя корригирующим образом на все регуляторные системы организма – иммунную, эндокринную, центральную нервную систему (ЦНС), не вызывая при этом никаких побочных эффектов. Механизмы реализации лечебного воздействия НИЛИ обеспечивают

интегрированное влияние на функционирование всех систем организма, нормализуя их работу и обеспечивая суммарный комплексный ответ организма.

НИЛИ действует на различные патогенетические звенья, что обуславливает его терапевтическую универсальность. К таким общим патогенетическим звеньям относятся: внутриклеточная гипоксия, ведущая к падению энергетического потенциала организма; активация ПОЛ, ведущая к нарушению клеточного метаболизма и функционирования митохондрий, повреждению мембранно-клеточных структур, превращению адаптационных реакций в патологические вплоть до «срыва» адаптации. НИЛИ изменяет процессы перекисного окисления липидов в направлении образования меньших количеств конечных продуктов окисления ведет к нормализации основных показателей ПОЛ, активации антиоксидантной защиты.

Лазерное излучение вызывает развитие адаптационных реакций: «тренировки» – при слабом воздействии, «активации» – при действии раздражителя средней силы, «стресса» – в ответ на сильный стимул. Каждая из них характеризуется определенным комплексом изменений, оказывающим влияние в первую очередь на уровень неспецифической резистентности организма, его противовоспалительный потенциал и обмен веществ.

4. Характеристика экспериментального материала

При анализе действия НИЛИ на крупный рогатый скот (КРС) проводилось исследование клинически здоровой молочной популяции высокопродуктивных коров голштинской черно-пестрой породы 2-й лактации. Методом аналогов было сформировано 6 групп коров по 18 голов в каждой. Животные во всех группах находились в одинаковых условиях содержания, кормления и ухода.

1 группа животных рассматривалась как интактная, поскольку в ходе исследования не находилась в условиях технологического стресса, 2,3,4,5,6 группы подвергались действию технологического стресса: перегруппировка животных и смена обслуживающего персонала, действующие ежедневно в течение 7 суток. Животных 3,4,5,6 группы после действия технологического стресса облучали НИЛИ. Курс физиопроцедур составил 7 облучений.

Распределение животных по экспериментальным группам было следующее: 3 группа, находясь в стрессе, подвергалась ежедневному 5 минутному воздействию НИЛИ на ухо; 4 группа, находясь в стрессе, подвергалась ежедневному 5 минутному воздействию НИЛИ на холку; 5 группа, находясь в стрессе, подвергалась ежедневному 15 минутному воздействию НИЛИ на ухо; 6 группа, находясь в стрессе, подвергалась ежедневному 15 минутному воздействию НИЛИ на холку.

Для лазеротерапии применяли автономный лазерный душ «МарсИК» (НПО "Петролазер", Санкт-Петербург) с длиной волны 830 нм, мощностью 90 мВт.

Оценку функционального состояния организма и обмена веществ у животных проводили на основании данных биохимических исследований крови, отражающих функциональное состояние организма. В сыворотке крови животных регистрировали концентрацию глюкозы, общего белка, креатинина, мочевины, каталитическую активность аминотрансфераз на биохимическом анализаторе «Clima MC-15» с использованием стандартного набора реактивов фирмы «BioSystems» и «Randox».

Молочную продуктивность контролировали по результатам контрольных доек после воздействия НИЛИ на 30 сутки эксперимента, в качестве исходных значений рассматривали показатели после совокупности воздействий, вызывающих технологический стресс. Исследуя молочную продуктивность, определяли качественные показатели молока с помощью ультразвукового анализатора «Лактан 1-4» (Россия), который позволяет определять массовую долю белка, массовую долю жира, массовую долю добавленной воды, СОМО и плотность молока. Лактозу определяли анализатором качества молока ««Лактан» исп. 600 УЛЬТРА» (ООО ВПК "СибАгроПРИБОР").

Интенсивность процессов липопероксидации в молоке животных оценивали путем определения продуктов первичного и вторичного липопероксидации спектрофотометрическим методом.

Критериями обменных процессов и косвенными маркерами стрессового воздействия на организм животного служат биохимические показатели крови: количество общего белка, соотношение основных белковых фракций, активность аминотрансфераз, мочевины, глюкозы, креатенина, уровня холестерина. В таблице 1 представлены биохимические показатели крови коров при технологическом стрессе и коррекции состояния организма НИЛИ.

Таблица 1
Динамика биохимических показателей крови опытных коров

Группа животных	Общий белок, г/л	Альбумины, %	Глобулины, %			Холестерол, ммоль/л	Глюкоза, ммоль/л	Мочевина, ммоль/л	АЛТ, МЕ/л	АСТ, МЕ/л	Креатинин, ммоль/л	Ca ²⁺ , ммоль/л	P, ммоль/л
			a	b	γ								
Час после начала исследования													
Интактная	76± 1,2	45± 1,4	12± 1,2	13± 1,3	30± 2,1	3,07± 0,08	2,29± 0,08	4,2± 0,09	35± 1,5	75± 2,5	89± 4,1	3,11± 0,18	1,55 ± 0,13
Стресс	74± 1,4*	42± 1,3*	11± 1,3	17± 1,1*	30± 2,2	2,04± 0,07*	4,06± 0,03*	3,5± 1,1	38± 1,2*	89± 2,2*	42± 5,6*	2,51 ± 0,22*	1,47 ± 0,15
Стресс+ НИЛИ, 5 мин	73± 1,3*	43± 1,1	12± 1,5	16± 1,3*	29± 1,8	2,10± 0,07*	3,99± 0,05*	3,9± 1,0	37± 1,2	86± 2,0*	56± 4,4*	2,62 ± 0,17*	1,45 ± 0,14
Стресс+ НИЛИ, 15 мин	71± 1,9***	43± 1,7	12± 1,7	16± 1,1*	29± 2,3	2,07± 0,09*	4,09± 0,04*	3,7± 1,2	37± 1,7*	87± 2,1*	70± 5,7*	2,71 ± 0,11*	1,45 ± 0,12
Первые сутки после начала исследования													
Интактная	77± 1,6	47± 1,4	9± 1,7	10± 1,3	34± 2,4	3,07± 0,08	2,29± 0,08	4,2± 0,09	30± 1,7	74± 2,3	90± 4,4	3,03 ± 0,25	1,59 ± 0,17
Стресс	70± 1,6*	42± 1,1*	10± 1,4	16± 1,7*	32± 2,6	2,11± 0,05*	4,12± 0,07*	3,6± 1,9	37± 1,6*	83± 2,3*	52± 5,7*	2,56 ± 0,13*	1,56 ± 0,25
Стресс+ НИЛИ, 5 мин	75± 1,3**	46± 1,2**	9± 1,6	11± 1,2	34± 2,0	2,56± 0,07* **	3,22± 0,10* **	3,8± 1,6*	34± 1,5*	82± 3,0*	76± 5,0* **	2,90 ± 0,21	1,58 ± 0,20
Стресс+ НИЛИ, 15 мин	74± 1,9**	45± 1,6**	10± 1,5	10± 1,7	35± 2,2	2,72± 0,08* **	3,07± 0,11* **	3,9± 1,7	35± 1,3*	84± 3,3*	82± 5,4**	2,86 ± 0,11	1,92 ± 0,27
Седьмые сутки после начала исследования													
Интактная	78± 1,6	45± 1,4	9± 1,6	13± 1,7	33± 2,9	3,08± 0,02	2,52± 0,08	4,2± 0,09	30± 1,2	74± 2,3	89± 4,3	3,06 ± 0,21	1,82 ± 0,21
Стресс	74± 1,4*	38± 2,4*	10± 1,4	12± 1,4	30± 2,1	3,13± 0,07	2,94± 0,06*	4,6± 1,7	32± 1,5	78± 4,7	87± 4,7	2,88 ± 0,14	1,51 ± 0,19
Стресс+ НИЛИ, 5 мин	76± 1,6	44± 1,8**	10 ±1,0	13± 1,5	33± 1,6	3,10± 0,04	2,55± 0,10**	4,4± 1,8	32± 1,5	74± 3,2	87± 4,3	2,99 ± 0,20	1,64 ± 0,18
Стресс+ НИЛИ, 15 мин	77± 1,3**	44± 1,6**	10 ±1,8	12± 1,9	34± 2,6	3,16± 0,06	2,47± 0,15**	4,9± 1,1	33± 1,7	75± 3,4	86± 4,4	2,95 ± 0,16	1,84 ± 0,16

Примечание: среднее ± SEM, «*» – статистически значимые различия относительно значений интактной группы, p≤0,05; «**» – статистически значимые различия относительно значений стрессированной группы, p≤0,05.

В условиях технологического стресса на первый час и первые сутки отмечено снижение в крови количества общего белка, его фракций, креатинина, мочевины, холестерина, отмечено повышение содержания в крови ферментов переаминирования по сравнению с показателями интактной группы. В состоянии технологического стресса содержание глюкозы, общего белка, альбуминов в крови было повышенным в течение 7 суток, что характеризует стресс-реакцию, при развитии которой происходит выброс в кровь адреналина, мобилизующего энергетические ресурсы организма для преодоления влияния стресса. Отмечены изменения минерального обмена – гипокальциемия.

Снижение креатинина при технологическом стрессе – конечного продукта метаболизма креатинфосфата и одного из компонентов остаточного азота, позволило оценить экскреторную функцию почек и интенсивность метаболизма в мышечной ткани коров. Было показано, что при технологическом стрессе содержание креатинина оставалось в пределах физиологической нормы (56 -162 ммоль/л), однако через час и сутки после технологического стресса уровень креатинина был ниже относительно интактной группы.

Также отмечено снижение содержания холестерина, который является основным компонентом липидного обмена у животных. Холестерол используется для построения клеточных мембран, синтеза половых гормонов, витамина D, является предшественником желчных кислот. Биохимический анализ сыворотки крови через час – первые сутки после технологического стресса показал, что содержание холестерина было ниже данных интактной группы.

Сниженный уровень холестерина в крови у животных в состоянии технологического стресса связан со снижением уровня метаболизма, уменьшением железистой ткани в вымени, также снижение содержания холестерина происходит при мобилизации липидов как источников энергии, компенсируя напряженность других видов обмена.

Кальций-фосфорный обмен играет важную роль в молокообразовании, влияет на воспроизводительные способности, является показателем здоровья животных. Снижение кальция так же регистрировалось через час – первые сутки после технологического стресса.

Аминотрансферазы, так же были снижены на первый час – первые сутки после технологического стресса. Ферменты АЛТ и АСТ внутриклеточные, участвуют в метаболических процессах в каждой клетке организма. Повышенный уровень в крови аминотрансфераз – маркер патологических процессов, характеризует разрушение клеток и некроз тканей.

При использовании НИЛИ исследуемые показатели возвращались к уровню значений интактной группы в течение первого часа – первых суток после технологического стресса. Полученные данные свидетельствуют о нормализации обмена веществ при действии НИЛИ и увеличении естественной резистентности.

Сходные результаты были получены при действии НИЛИ на холку.

Результаты исследования молочной продуктивности после совокупности воздействий, вызывающих технологический стресс, выявили снижение показателя на 33% относительно интактной группы животных с сохранением пониженного уровня до конца эксперимента. Молочная продуктивность в экспериментальных группах с использованием НИЛИ при технологическом стрессе повышалась относительно группы технологического стресса без воздействия НИЛИ. Так, на 30 сутки эксперимента молочная продуктивность увеличилась на 11% и 15% при 5 и 15 мин облучении уха и на 24% при 5 мин воздействии на холку по сравнению с показателями до воздействия НИЛИ (табл. 2).

Таблица 2

Влияние НИЛИ на молочную продуктивность коров (кг)

Группы животных	Этапы исследования	
	До воздействия НИЛИ	После воздействия НИЛИ
Экспериментальные группы		
стресс+НИЛИ 5 мин ухо	38,12±2,10	42,36±1,17*
стресс+НИЛИ 5 мин холка	34,52±3,25	42,92±4,01*
стресс+НИЛИ 15 мин ухо	37,32±2,25	43,25±1,19*
стресс+НИЛИ 15 мин холка	42,2±5,23	43,18±4,38
Контрольные группы без воздействия НИЛИ		
стресс	30,1±2,17	32,3±2,13
интактная	44,9±2,20	43,9±1,15

Примечание: * – статистически значимые различия ($p < 0.05$) по отношению к данным до воздействия НИЛИ.

Анализ качественных показателей молока выявил, что массовая доля белка в молоке повышалась на 10-11% при действии НИЛИ на ухо 5 и 15 мин соответственно, и на 15% и 12% при действии лазерного излучения на холку в течение 5 и 15 мин по сравнению с показателями до воздействия НИЛИ (табл. 3). Технологический стресс вызывал снижение доли белка более чем на 11% по сравнению с интактной группой коров и в конце исследования не регистрировалось полного восстановления данного показателя до значений интактной группы животных.

Жирномолочность молока значимо не изменялась в исследуемых группах, хотя при действии НИЛИ выраженность восстановительных процессов по содержанию жира в молоке после действия технологического стресса была более значима по сравнению с группой после технологического стресса без применения НИЛИ.

Увеличение содержания лактозы было обнаружено при воздействии НИЛИ на область уха в течение 5 и 15 минут и на область холки в течение 5 минут на 3%, 4% и 5% соответственно. Показатели массовой доли лактозы в группе животных, подвергшихся технологическому стрессу без воздействия НИЛИ, были ниже, чем в интактной группе в течение всего эксперимента.

Таблица 3

Влияние НИЛИ на качественные показатели молока коров (%)

Группы животных	Этапы исследования	
	До воздействия НИЛИ	После воздействия НИЛИ
Экспериментальные группы	Массовая доля белка, %	
стресс+НИЛИ 5 мин ухо	2,87±0,14	3,15±0,13* 10
стресс+НИЛИ 5 мин холка	2,80±0,15	3,22±4,01* 15
стресс+НИЛИ 15 мин ухо	2,89±0,11	3,21±0,16* 11
стресс+НИЛИ 15 мин холка	2,79±0,13	3,13±0,18* 12
Контрольные группы без воздействия НИЛИ		
стресс	2,82±0,18	3,06±0,24
интактная	3,18±0,07	3,24±0,12
	Массовая доля жира, %	
стресс+НИЛИ 5 мин ухо	4,36±0,39	5,23±0,42
стресс+НИЛИ 5 мин холка	4,68±0,18	5,10±0,27
стресс+НИЛИ 15 мин ухо	4,54±0,49	5,07±0,53
стресс+НИЛИ 15 мин холка	4,72±0,28	4,87±0,27
Контрольные группы без воздействия НИЛИ		
стресс	4,47±0,70	4,52±0,50
интактная	5,15±0,46	5,14±0,55
	Массовая доля лактозы, %	
стресс+НИЛИ 5 мин ухо	5,17±0,07	5,31±0,06* 3
стресс+НИЛИ 5 мин холка	5,22±0,03	5,45±0,05* 5
стресс+НИЛИ 15 мин ухо	5,14±0,11	5,32±0,07* 4
стресс+НИЛИ 15 мин холка	5,26±0,09	5,40±0,07
Контрольные группы без воздействия НИЛИ		
стресс	5,14±0,02	5,19±0,01
интактная	5,42±0,11	5,44±0,03

Примечание: * – статистически значимые различия ($p < 0.05$) по отношению к данным до воздействия НИЛИ.

Далее приведены таблицы демонстрирующие, что воздействие НИЛИ снижает уровень продуктов свободнорадикального окисления липидов молока (табл.4-6). Снижение содержания диеновых, триеновых конъюгатов и оснований Шиффа составило 30, 17 и 40%, соответственно, при воздействии НИЛИ на область уха в течение 5 минут. При нанесении НИЛИ на холку в течение 15 минут наблюдалось снижение уровня оснований Шиффа на 42% по сравнению с уровнем до лазерной терапии.

Оценка показателей перекисного окисления позволяет оценить интенсивность окислительных процессов в молоке коров. При технологическом стрессе в результате активации ПОЛ образуются первичные, вторичные и конечные молекулярные продукты окисления, играющие важную роль в изменении физико-химических свойств липидов и белков.

Таблица 4

Содержание диеновых конъюгатов в коровьем молоке

Группы животных	Диеновые конъюгаты	
	До воздействия НИЛИ	После воздействия НИЛИ
интактная	0,94±0,36	0,95±0,34
стресс	1,32±0,27	1,29±0,31
стресс+ НИЛИ 5 минут ухо	1,25±0,35	0,93±0,29*
стресс+ НИЛИ 5 минут холка	1,28±0,33	0,89±0,37*
стресс+ НИЛИ 15 минут ухо	1,29±0,37	0,92±0,35
стресс+ НИЛИ 15 минут холка	1,31±0,28	0,26±0,27

Примечание: * – статистически значимые различия ($p < 0,05$) по отношению к данным до воздействия НИЛИ.

Таблица 5

Содержание триеновых конъюгатов в коровьем молоке

Группы животных	Триеновые конъюгаты	
	До воздействия НИЛИ	После воздействия НИЛИ
интактная	0,085±0,010	0,089±0,009
стресс	0,103±0,012	0,104±0,014
стресс+ НИЛИ 5 минут ухо	0,107±0,021	0,089±0,019
стресс+ НИЛИ 5 минут холка	0,105±0,008	0,087±0,010*
стресс+ НИЛИ 15 минут ухо	0,106±0,011	0,093±0,015
стресс+ НИЛИ 15 минут холка	0,105±0,013	0,095±0,014

Примечание: * – статистически значимые различия ($p < 0,05$) по отношению к данным до воздействия НИЛИ.

Таблица 6

Содержание оснований Шиффа в коровьем молоке

Группы животных	Основания Шиффа	
	До воздействия НИЛИ	После воздействия НИЛИ
интактная	0.015±0.001	0.016±0.002
стресс	0.023±0.010	0.022±0.013
стресс+ НИЛИ 5 минут ухо	0.024±0.013	0.015±0.011
стресс+ НИЛИ 5 минут холка	0.027±0.014	0.016±0.010*
стресс+ НИЛИ 15 минут ухо	0.029±0.019	0.017±0.011*
стресс+ НИЛИ 15 минут холка	0.022±0.010	0.012±0.001*

Примечание: * – статистически значимые различия ($p < 0,05$) по отношению к данным до воздействия НИЛИ.

Анализ результатов показывает, что НИЛИ эффективно уменьшает продукты липопероксидации в молоке во всех исследуемых группах. При этом необходимо учитывать, что измерение образования диеновой конъюгации имеет то преимущество, что оно измеряет раннюю стадию процесса окисления.

В нашем исследовании показано, что 5-минутное воздействие НИЛИ на ухо и холку коров ограничивает процессы липопероксидации на ранних стадиях, тогда как при действии НИЛИ 15 мин уменьшение ПОЛ идет на поздних стадиях. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что при действии НИЛИ в молоке уменьшается содержание белков и липидов, подвергнутых окислительной модификации.

При этом следует учитывать, что эффекты НИЛИ зависят от дозы воздействия и есть доказательства, что некоторые полезные эффекты могут быть потеряны, если дозы НИЛИ слишком высоки. Данное положение согласуется с нашими экспериментами, в которых выявлено, что увеличение времени экспозиции НИЛИ до 15 мин в области холки снижало эффективность действия облучения на показатели продуктивности и липопероксидацию молока. Этот факт необходимо учитывать, при разработке протоколов действия НИЛИ в качестве корректора технологического стресса.

РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

С целью повышения продуктивности и резистентности крупного рогатого скота наряду с традиционными зооветеринарными приемами рекомендуется при технологическом стрессе коров применять низкоинтенсивное лазерное излучение с длиной волны 830 нм 5 или 15 минут в течение 7 дней в области уха животных или 5 минут в течение 7 дней в области холки.

Список литературы

1. Андреев А.Ю., Кушнарев Ю.Е., Старков А.А. Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях // Биохимия. 2005. Т70. №2. С.246-264.
2. Бабенко Е.В., Корочкин И.М. Действие лазерного света малой мощности на гомеостаз // Современная медицина. 1990. № 3. С.3-8.
3. Барабой В.А. Стресс: природа, биологическая роль, механизмы, исходы. Киев: Фитосоциоцентр, 2006. 424с.
4. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г. Перекисное окисление и стресс. СПб.: Наука, 1992. 292с.
5. Бейер Э.В., Локтев Н.А. Гистохимические и морфологические изменения в различных областях гиппокампа крыс при плавательном стрессе // Росс.физиол. журнал, 2001. № 3. С.314-318.
6. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов. М.: Медицина, 1989. 368с.
7. Бриль Г.Е., Петросян В.И., Житнева Э.А. и др. Новые данные об изменении структуры биожидкостей под влиянием низкоинтенсивного лазерного излучения // Физическая медицина. 1996. Т. 5. № 1-2. С.39-40.
8. Бышевский А.Ш., Терсенов О.А. Биохимия для врача. Екатеринбург: ИПП «Уральский рабочий», 1994. 384 с.
9. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И., Козлов А.В., Осипов А.Н., Рощупкин Д.И. Свободные радикалы в главных системах. // Биофизика (Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР). 1991. Т. 1. №6. С.17-18.
10. Владимиров Ю.А. Роль нарушений свойств липидного слоя мембран в развитии патологических процессов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. 1989. № 4. С.7-19.
11. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский образовательный журнал. 2000. №12. С.13-19.
12. Гаркави Л.Х., Квакина Е.Б., Кузьменко Т.С. Антистрессорные реакции и активационная терапия. Реакция активации как путь к здоровью через процессы самоорганизации. М.: ИМЕДИС, 1998. 656 с.
13. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функция. М.: Мир, 1997. 624с.
14. Голиков П.П. Рецепторные механизмы глюкокортикоидного эффекта М. Медицина, 1989. 288с.
15. Горизонтов П.Д. Гомеостаз. М.: Медицина, 1976. 464с.
16. Делоне Н.Б. Взаимодействие лазерного излучения с веществом. М.: Наука, 1989. 280 с.
17. Дубинина Е.Е. Бурмистров С.О., Ходов Д.А., Поротов И.Г. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Вопр.мед.химии. 1995. Т.41. №1. С.24-25.

18. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, создание и разрушение). Физиологические и клиничко-биохимические аспекты. СПб.: Медицинская пресса, 2006. 440с.
19. Дубинина Е.Е., Шугалей И.В. Окислительная модификация белков // Успехи современной биологии. 1993. Т.113. №1. С.71-79.
20. Дубинина Е.Е., Морозова М.Г., Леонова Н.В., Гампер Н.Л., Солитернова И.Б., Нуллер Ю.Л., Бутома Г.Б., Ковругина С.В. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) // Вопр.мед.химии. 2000. Т.46. №4. С.398-409.
21. Журавлев А.И., Зубкова А.И. Антиоксиданты. Свободнорадикальная патология. М.: МГАВМ и Б им. К.И.Скрябина, 2008. 272с.
22. Журавлев А.И., Зубкова С.М. Антиоксиданты. Свободнорадикальная патология. М.: МГАВМ и Б им.К.И.Скрябина, 2008. 272с.
23. Зенков Н.К., Меньшиков Е.Б., Шергин С.М. Окислительный стресс. Диагностика, терапия, профилактика. Новосибирск: СО РАМН, 1993. 181с.
24. Золотарева Т.А., Олешко А.Я., Олешко Т.И. Экспериментальное исследование антиоксидантного действия низкоинтенсивного лазерного излучения инфракрасного диапазона // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физкультуры. 2001. № 3. С.3-5.
25. Илларионов В.Е. Основы лазерной терапии. М.: Наука, 1992, 128с.
26. Кожевников Ю.Н. О перекисном окислении липидов в норме и при патологии // Вопросы мед. химии. 1985. №5. С.2-7.
27. Кожура В.М., Дворецкий С.В., Новодержкина И.С. Влияние внутрисосудистого гелийнеонового лазерного облучения крови на состояние компенсаторных процессов в остром периоде геморрагического шока и после реанимации // Анестезиология и реаниматология. 1993. № 4. С.43-48.
28. Козлов В.И., Буйлин В.А. Основы лазерной и рефлексотерапии. Киев: Здоровье, 1993. 216 с.
29. Конторщикова К.Н. Перекисное окисление липидов в норме и патологии: Учебное пособие. Нижний Новгород, 2000. 24с.
30. Крыжановский Г.Н. Некоторые общебиологические закономерности и базовые механизмы развития патологических процессов // Архив патологии. 2001. №6. С.44-49.
31. Кудряшов Ю.Б. Радиационная биофизика (ионизирующее излучение) М.: ФИЗМАТЛИТ. 2004. 448с.
32. Лакомкин В.Л., Коркина О.В., Цыпленкова В.Г., Тимошин А.А., Рууге Э.К., Капелько В.И. Защитное действие убихинона (коэнзима Q10) при ишемии и реперфузии сердца // Кардиология. 2002. Т.42, №12. С.51-55.

33. Лю Б.И., Шайхутдинов Е.М. Физико-химические и биокibernетические аспекты онкогенеза. Алма-Ата, 1991. 270с.
34. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессовых и ишемических повреждений сердца. М.: Медицина, 1984. 302с.
35. Меерсон Ф.З., Малышева И.Ю. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца. М.: Наука, 1993. 159 с.
36. Москвин С.В. Лазерная терапия в дерматологии витилиго. М.: НПЛЦ «Техника», 2003. 125 с.
37. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса. Новосибирск: Наука, 1983. 216с.
38. Ройт А., Бротстофф Дж., Мейл Д. Иммунология. М.: Мир. 2000. 592 с.
39. Ротенберг В.С., Аршавский В.В. Поисковая активность и адаптация. М.: Наука, 1984. 193с.
40. Рябов Г.А., Азизов Ю.М., Пасечник И.Н. Окислительный стресс и эндогенная интоксикация у больных в критических состояниях // Вестник интенсивной терапии. 2002. №4. С.4-7.
41. Сапронов Н.С. Фармакология гипофизарно-надпочечниковой системы СПб: Специальная литература, 1998. 336с.
42. Файн С., Клейн Э. Биологическое действие излучения лазера. М.: Атомиздат, 1968. 104с.
43. Филаретов А.А. Подвигина Т.Г., Филоретова Л.П. Адаптация как функция гипофизарно-адреналовой системы. СПб.: Наука, 1994. 131с.
44. Хаитов Р.М., Лесков В.П. Иммуитет и стресс // Росс.физиол. журнал, 2001. Т.87. №8. С.1060-1072.
45. Цой П.К. Свободнорадикальное окисление в медицине и фармации // Казахстанский фармацевтический вестник. 2002. №5. С.38-40.
46. Чейда А.А., Каплан М.А., Ефимова Е.Г., Холодов Ю.А. Влияние низкоинтенсивного инфракрасного лазерного излучения на модели биологических систем. Иваново: Изд. ИВГМА, 2002. 102с.
47. Эйдуc Л.Х. Мембранный механизм биологического действия малых доз. Новый взгляд на проблему. М.: [Б.и.] 2001. 81с.
48. Aruoma O.I. Free radicals, oxidants and antioxidants: trend towards the year 2000 and beyond // Molecular Biology of Free Radicals in Human Disease. London: Oica International, Saind Lucia. 1998. P.1-28.
49. Asterita M.F. The physiology of stress. NY: Human Sciences Press, 1985. 264p.
50. Caraceni C., Maria T. By, Ryu H.S., Colantoni A., Roberts L., Maitd M.L., Pye Q., Bernardi M., Van Thiel D.H., Floyd R.A.. Proteins but not nucleil acids are molecular targets for the three radical attack during reoxygenation of rat hepatocytes // Free Radic.Biol.Med. 1997. V.23. №. 2. P.339-344.
51. Chrousos G.P., Gold P.W. The concerts of stress and stress system disorders // JAMA. 1992. № 267. P.1244-1252.

52. Galle J., Schneider R., Vinner B. et al. Glyc-oxidized LDL impair endothelial function more potently than oxidized LDL: role of enhanced oxidative stress // *Atherosclerosis*. 1998. V.138, №1. P.65-77.
53. Halliwell B. Reactive oxygen species and the central nervous system // *Free radical in brain. Aging, neurological and mental disorders*. Berlin, N.Y. London: Springer-verlag, 1992. P.21-40.
54. Huether G. The central adaptation syndrome: Psychosocial stress as trigger for adaptive modifications of brain structure and brain functions // *Progr. Neurobiology*. 1996. № 48. P.567-612.
55. Kamal E., Habib M.D., Philip W., Gold M.D., George P., Chrousos M.D. Нейроиммунология стресса // *Endocrinology and Metabolism Clinics*. 2001. V. 30, № 3. P.695-728.
56. Michiels C., Raes M., Pigeolet E., Corbisier P., Lambert D., Remacle J. Importance of a threshold for error accumulation in cell degenerative processes. I. Modulation of the threshold in a model of free radical induced cell degeneration // *Mech.Ageing Dev*. 1990. V.51, №1. P.41-54.
57. Pereira A.N., Eduardo P.C., Matson L.M., Marques M.M. Effect of low-power laser irradiation on cell growth and procollagen synthesis of cultured fibroblasts // *Journal of Clinical Laser Medicine and Surgery*. 2003. №6. P.351-355.
58. Selye H. Syndrome produced by diverse nocuous agents // *Nature*. 1936. № 138. P.4-32.
59. Selye H. The stress concept: present and future. In: *Stress research* // Wiley. 1983. № 1. P.1-20.
60. Shacter E. Quantification and signification of protein oxidation in biological samples // *Drug metabolism reviews*. 2000. V.32. №3-4. P.307-326.
61. Shacter E., Williams J.A., Lim M., Levine R.L. Differential susceptibility of plasms to oxidative modification: examination by western blot immunoassay // *Free Radic.Biol. Med*. 1994. V.17. №5. P.429-437.
62. Sunanda, Shankaranarayana Rao B.S., Raju T.R. Restraint stress-induced alterations in the levels of biogenic amines, amino acids and AchE activity in the hippocampus // *Neurochem. Res*. 2000. V. 12. P.1547-1552.
63. Zamora Z., Alaiz M., Hidalgo F.J. Feed-back inhibition of oxidative stress by oxidized lipid/amino acid reaction products/ // *Biochemistry*. 1997. V.36. №.50. P.15765-15771.

Анна Вячеславовна **Дерюгина**
Марина Николаевна **Иващенко**
Мария Николаевна **Таламанова**

ДЕЙСТВИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ ПРИ СТРЕСС-РЕАКЦИИ ОРГАНИЗМА

Методические рекомендации

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет
им. Н.И. Лобачевского
603022, Нижний Новгород, пр. Гагарина, 23

Подписано в печать.....Формат 60×84 1/16
Бумага офсетная. Печать офсетная. Гарнитура Таймс.
Усл. печ. л. Уч.-изд.л.

Заказ №Тираж экз.
Отпечатано в типографии госуниверситета им. Н.И. Лобачевского
603600, г. Н.Новгород, ул. Большая Покровская, 37