

NADPH СОДЕРЖАЩИЙ БЕЛКОВЫЙ КОМПОНЕНТ ИЗ КРАСНОГО ПОЛУСЛАДКОГО ВИНА: СТИМУЛИРОВАНИЕ ПРОДУЦИРОВАНИЯ СУПЕРОКСИДНЫХ РАДИКАЛОВ ИЗОФОРМАМИ NADPH ОКСИДАЗЫ ИММУННЫХ КЛЕТОК

СИМОНЯН РУЗАН

*Кандидат биологических наук, доцент ГГУ,
Старший научный сотрудник
Института биохимии имени Р. Бунятыана НАН РА
e-mail: ruzan.simonyan@gmail.com*

СИМОНЯН ГЕГАМ

*Кандидат биологических наук, старший научный сотрудник
Института биохимии имени Р. Бунятыана НАН РА
e-mail: gegasim@mail.ru*

Впервые из полусладкого красного вина Ехегнадзора (Армения) выделили и очистили супероксид-продуцирующий комплекс NADPH-содержащего белкового компонента (НБК) с Fe(III), [НБК-Fe(III)]. Из комплекса НБК-Fe(III) отделили НБК, который имеет только восстановительный (антиоксидантный) эффект. Удельное содержание НБК или НБК-Fe(III) составляет 4,5 мг/мл ($p < 0,05$, $n = 6$) вина. Интенсивность флуоресценции для комплекса НБК-Fe(III) или только для НБК (по 4 мг/мл) в относительных единицах (F) составляет: $52,6 \pm 5,5$ ($p < 0,05$, $n = 6$). Fe(III) в комплексе НБК-Fe(III) является мостиком передачи электрона от NADPH к молекулярному кислороду, восстанавливая его супероксидный радикал (O_2^-). НБК стимулирует процесс продуцирования O_2^- изоформами NADPH оксидаз (Nox) эритроцитарных и лейкоцитарных мембран в гомогенной и гетерогенной фазе аналогичным механизмом, используя Fe(III) гемовой группы изоформ Nox.

Таким образом, полученные данные дают основания для использования комплекса НБК-Fe(III) из красного полусладкого вина, как натурального, антимикробного агента, а НБК, как иммуномодулятора или стимулятора изоформ Nox иммунных клеток (эритроцитов и лейкоцитов).

Ключевые слова: NADPH содержащий белковый компонент, вино, NADPH оксидаза, активирование.

Впервые NADPH-содержащие O_2^- -продуцирующие белковые компоненты (липопротеины) выделили из сыворотки крови млекопитающих, эктосом эритроцитов и из мембран клеток лекарственных растений [1-4]. Механизм продуцирования O_2^- этими компонентами связан с переносом электрона ассоциированный ионом Fe(III) или

Fe(III) гемовой группы изоформ Nox от NADPH белковых компонентов к молекулярному кислороду, восстанавливая его до O_2^- . Однако мембраносвязанные образования (вакуолы) тканей фруктов (винограда) по своим прочностью и функционированием существенно отличаются от таковых у мембран клеток и внутриклеточных образований животных и растений [5]. При этом виноград проявляет антиоксидантную активность и стимулирует иммунную систему млекопитающих [6,7]. Как активные интермедианты, виноград содержит ионы различных металлов, в частности, железа и меди [8,9]. Однако, антиоксидантный статус винограда или вина должен находиться в физиологическом равновесии с прооксидантным статусом, который должен связываться с ионами Fe(+3) и Cu(+2), как это имеет место у супероксид-продуцирующего липопротеина сыворотки крови млекопитающих [1].

Цель данной работы - выделить и очистить комплекс НБК-Fe(III) из красного полусладкого вина, а также отделить НБК из этого комплекса и определить механизмы продуцирования O_2^- этим комплексом и иммуномодулирующего эффекта НБК.

Материал и методы

Выделение и очистка ЭМ и ЛМ из донорской крови

Плазму донорской крови II группы (по 20 мл) отделяли от эритроцитов с использованием 3% Dextran-70 («Loba Finchemie», Германия), растворенного в физрастворе [10]. После промывания осадка эритроцитов 0,9% NaCl и гемолиза в воде, ЭМ осаждали центрифугированием (5800 x g, 10 мин) при pH 5,6. Далее ЭМ промывали 0,04 М калий фосфатным буфером, pH 7,4 (КФБ) и осадили в приведенных условиях, до получения бесцветного супернатанта.

Лейкоциты из плазмы крови осадили центрифугированием в аналогичных условиях. После промывания осадка лейкоцитов физраствором, их гомогенизировали водой, и после замораживания и размораживания, ЛМ осаждали также при pH 5,6. После промывания 0,04 М КФБ, осадок ЛМ собирали центрифугированием при 13000 x g, 10 мин. Далее полученные осадки ЭМ и ЛМ смешивались водой (1:10 об/об). После осаждения лейкоцитов из плазмы крови, сыворотку крови дополнительно центрифугировали при 14000 x g, 15 мин.

Выделение и очистка суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из ЭМ и ЛМ.

У водных смесей ЭМ и ЛМ pH доводили до 9,5, добавлением 0,1 М КОН, а также 50 мкМ ферригемоглобина (Hb) эритроцитов человека и инкубировали при 37°, в течение 1,5 ч. После центрифугирования при 5800 x g 10 мин супернатанты подвергали ионообменной хроматографии на отдельных колонках с целлюлозой DE-52, из которых после элюации фракции Hb 0,005 М КФБ, суммарные фракции изоформ Nox1+Nox2 ЭМ и ЛМ элюировали 0,2 М КФБ. После гель-фильтрации суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 на колонке с сефадексом G-100 следы Hb,

входящие в комплекс с Nox, удаляли обработкой раствором этанола с хлороформом [11].

Выделение и очистка комплекса НБК-Fe(III) из красного полусладкого вина (КПВ)

К 100 мл КПВ добавили 1М КОН до pH9,5 и инкубировали при 37°C в течение 1,5 ч. После их центрифугирования при 5800 x g, 10 мин, к супернатанту добавили 0,2 М HCl до 4,8, после инкубирования при 4°C в течение 20 мин и центрифугирования в приведенных условиях, полученный осадок гомогенизировали (промывали) в воде (1:100 об/об) и собирали центрифугированием. Осадок окончательно гомогенизировали в воде уже при pH9,5 и после центрифугирования подвергли ионообменной хроматографии на колонке с целлюлозой DE-52, также при pH 9,5. Комплекс НБК-Fe(III) не осаждается на этой колонке и свободно элюируется. Этот элюат концентрировали и подвергли гель-фильтрации на колонке с сефадексом G-100, также при pH9,5. Далее соединили первовыходящие фракции НБК-Fe(III), с симметричной элюационной диаграммой.

Изолирование НБК путем удаления Fe(III) от комплекса НБК-Fe(III) из КПВ.

После инкубации ЭДТА (0,005 М) с комплексом НБК –Fe(III) (0,5 мг/мл) при 37° в течение 25-30 мин, инкубационную смесь подвергали ионообменной хроматографии на целлюлозе DE-52, уравновешенной водой, при pH9,5. В этих условиях ЭДТА cFe(+3) задерживаются на колонке, а НБК элюируется без задержки.

Электрофорез полученных белковых компонентов осуществляли в 10% полиакриламидном геле (ПААГ) для белков кислого и основного характера.

Содержания НБК-Fe(III), НБК, а также Nox, ЭМ и ЛМ определяли взвешиванием после их обессоливания и вакуумной лиофилизации.

Определение процента увеличения стационарной концентрации продуцируемых O_2^- .

Стационарную концентрацию продуцируемых O_2^- изоформами Nox из ЭМ и ЛМ в присутствии НБК определяли адреналиновым [12] и нитротетразолиевым синим (НТС) [13] методами. В последнем случае используется инициатор феназинметасульфат (10^{-5} М). Продуцируемые O_2^- окисляют адреналин ($2 \cdot 10^{-4}$ М) до адrenoхрома (при 500нм) и восстанавливают НТС ($4 \cdot 10^{-4}$ М) до формазана (при 560нм). Определяли проценты увеличения плотности максимального оптического поглощения адrenoхрома и формазана продуцируемыми O_2^- в отсутствии (100%) и присутствии НБК. Стимулирование процесса продуцирования O_2^- изоформами Nox1+Nox2 ЭМ и ЛМ в гомогенной и гетерогенной фазе в отсутствии и присутствии НБК определяли после инкубации приведенных Nox (по 0,2 мг/мл из ЭМ и ЛМ), а также ЭМ и ЛМ (по 2 мг/мл) с полученными НБК из КПВ (по 0,9 мг/мл) при 37°C в течение 5 мин. Приведены подобранные малые и эффективные концентрации

используемых компонентов. Для подавления этих процессов использовали $2 \cdot 10^{-8}$ М Cu, Zn-COD.

Определение NADPH в составе НБК из КПВ.

Группу NADPH в составе НБК определяли спектрофлуориметрическим методом. Эмиссионный пик группы NADPH в составе НБК регистрировали при 430 нм, с длиной возбуждения 370 нм. В качестве контроля использовали растворы NADPH с определенной концентрацией.

Были использованы целлюлозы DE-52 («Whatman», Англия), сефадекс G-100 («Pharmacia» – Швеция) и Dextran-70 (Швеция).

В ходе работ были использованы спектрофотометр “Cary 60 UV/VIS” (США) и спектрофлуориметр “Perkin Elmer” (США), а также центрифуги K-24 и K-70 (“Janetzki”, Германия).

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли методом вариационной статистики Стьюдента-Фишера, с определением критерия достоверности “p” ($m \pm M$, $n=6$).

Результаты и обсуждение

В результате ионообменной хроматографии на колонке с целлюлозой DE-52 при pH 9,5 комплексы НБК-Fe(III) из КПВ не задерживаются на этой колонке. После концентрирования комплекса НБК-Fe(III) и гель-фильтрации на колонке с сефадексом G-100 собирали первовыходящие фракции НБК-Fe(III) с симметричной элюационной диаграммой.

Удельное содержание НБК-Fe(III) из КПВ составляет 4,5 мг/мл КПВ. Электрофоретически гомогенные суммарные фракции изоформ Nox1+Nox2 из ЭМ и ЛМ выделили и очистили лицензированным методом, используя открытое недавно явление нестабильного комплексообразования ферригемоглобина с изоформами Nox и их отщепления из биомембран в растворимую фазу [14].

При электрофорезе на 10% ПААГ приведенные НБК не проходят через трубки с ПААГ, агрегируются на входе этого геля. Однако после окрашивания ПААГ для водорастворимых, сопутствующих НБК белков кислого и основного характера, они не были обнаружены на ПААГ.

Таким образом, на основании симметричности элюационной диаграммы НБК-Fe(III) через G-100, отсутствие полосы окрашивания для кислых и основных водорастворимых белков на ПААГ, постоянность величины оптического спектрального индекса ($A_{280}/A_{430} = 7,4$) из КПВ, косвенно можно говорить о чистоте комплекса НБК-Fe(III).

После очистки приведенным путем оптические спектры поглощения комплекса НБК-Fe(III) из КПВ приведен на рис. 1.

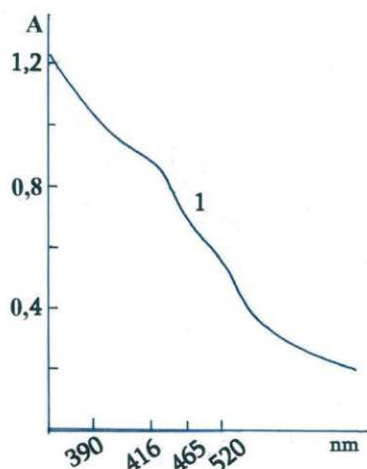


Рис.1. Оптический спектр поглощения слабо опалесцирующего водного раствора комплекса НБК-Fe(III) или НБК (1) из КПВ при pH9,5.

Как показано на рис.1, характерные максимальные оптические поглощения НБК или НБК-Fe(III) из КПВ наблюдаются при 430 и 520 нм. В УФ области имеется характерное максимальное поглощение для белков при 280 нм. Скорее всего НБК является гликопротеином. Растворы комплексов НБК-Fe(III) в 0,1 М калий фосфатном буфере, pH7,4 (КФБ) имеют несколько повышенную опалесценцию (повышается фоновое оптическое поглощение всего на 10-12%). При этом форма и интенсивность оптического поглощения приведенного комплекса практически не изменяется в присутствии 0,9% NaCl.

NADPH в составе НБК или комплекса НБК-Fe(III) определенного спектро флуориметрическим методом, имеет характерный эмиссионный пик при 420 нм, с длиной возбуждения 375 нм. Интенсивность флуоресценции НБК-Fe(III) или только НБК (по 4 мг/мл) в относительных единицах (F) составляет $52,6 \pm 5,5$ ($p < 0,05$, $n = 6$). Напомним, что аналогичный показатель для NADPH содержащего супероксид продуцирующего липопротеина сыворотки плацентарной крови женщин (супрол) составляет всего $60,4 \pm 5,8$ ($p < 0,05$, $n = 6$) [1].

Оптические спектры поглощения изоформ Nox1+Nox2 из ЭМ и ЛМ в окисленном и восстановленном состоянии с характерным для Nox поглощением при 558 нм приведены на рис. 3.

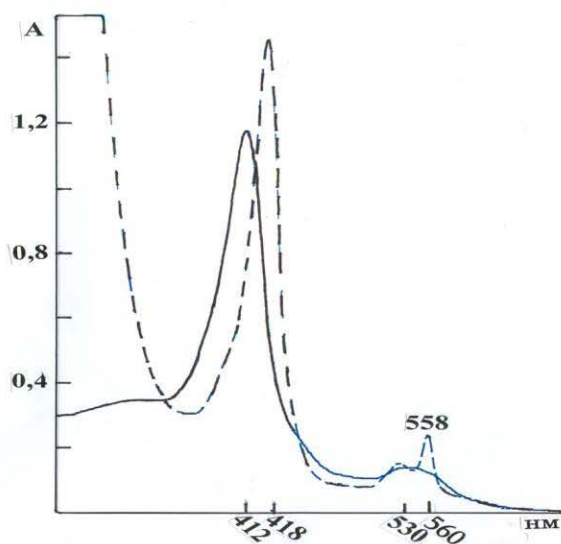


Рис.4. Оптические спектры поглощения – суммарной фракции Nox1+Nox2 из ЭМ или ЛМ (—) донорской крови при pH 7,4. После восстановления дитионитом натрия на оптическом спектре этих Nox появляется характерное для Nox острое поглощение при 558 нм (---), $p < 0,05$, $n=6$.

Механизм продуцирования O_2^- комплексом НБК-Fe(III) из КПВ обусловлен тем, что используя Fe(III) как переносчик электронов от NADPH в своем составе к молекулярному кислороду, восстанавливает его до O_2^- (O_2^- окисляют адреналин в адренохром или восстанавливают НТС до формазана). Эти процессы ингибируются в присутствии $2 \cdot 10^{-8} M$ Cu, Zn-СОД.

С другой стороны, НБК из КПВ используя Fe(III) гемовой группы, в частности, изоформ эритроцитарных и лейкоцитарных Nox (как электронный мостик) в гомогенной и гетерогенной фазе, также переводит электрон от NADPH к O_2 , восстанавливая его до O_2^- .

Проценты увеличения продуцирования НБК в присутствии изоформ Nox эритроцитарных и лейкоцитарных мембран в гомогенной и гетерогенной фазе приведены на таблице.

Таблица

Относительное увеличение (%) плотности максимального оптического поглощения адренохрома (при 500 нм) и формазана (в присутствии инициатора-феназинметосульфата при 560 нм), образовавшегося при окислении адреналина и восстановления НТС супероксидными радикалами, продуцируемыми НБК из КПВ в

присутствии суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из ЭМ и ЛМ в гомогенной фазе (в растворе) и гетерогенной фазе (в присутствии ЭМ и ЛМ), по сравнению с 100%-ными контрольными показателями (показатели в отсутствии НБК).

Компоненты продуцирования O_2^- в присутствии 0,2 мг/мл НБК из КПВ	Проценты увеличения плотности максимального оптического поглощения адренохрома при 500 нм	Проценты увеличения плотности максимального оптического поглощения формаза при 560 нм
Nox1+Nox2 (0,2 мг/мл) из ЭМ	↑61,3	↑67,2
Nox1+Nox2 (0,2 мг/мл) из ЛМ	↑67,9	↑71,4
ЭМ(0,5 мг/мл)	↑69,3	↑73,8
ЛМ(0,5 мг/мл)	↑79,6	↑80,4

В приведенных условиях O_2^- -продуцирующая активность лейкоцитарных Nox больше, чем эритроцитарных. Хотя как лейкоциты, так и эритроциты являются модуляторами иммунной системы [15]. При этом удельное содержание эритроцитов больше таковое у лейкоцитов в 1000 раз.

Таким образом, появляются перспективы для использования комплекса НБК-Fe(III) из КПВ, как энергичного, сравнительно стабильного, непрерывно действующего и природного агента продуцирования O_2^- , как бактерицидного и антивирусного фактора [16]. С другой стороны, НБК из КПВ может быть использован как природный агент стимуляции пониженной O_2^- -продуцирующей активности изоформ Nox лейкоцитарных и эритроцитарных мембран при понижении иммунной активности (иммунодефиците) млекопитающих [17] в эксперименте, в перспективе, и в клинике.

Как уже отметили, НБК из КПВ в лиофилизированном состоянии, особенно в атмосфере азота, практически не теряет свою O_2^- -продуцирующую активность при хранении -10-15°С в течение года. Потеря активности также не наблюдается после растворения этого НБК в 0,01 М КФБ (рН7,4) с физраствором. Это дает возможность для введения НБК в кровь животных. Необходимо вспомнить, что аналогичный агент (супрол) из сыворотки плацентарной крови женщин не вызывает побочные нежелательные эффекты, после введения супрола белым крысам. Более того, введенный супрол оказывает антиопухолевый эффект [18,19].

Можно заключить, что впервые из КПВ Армении выделен и очищен O_2^- -продуцирующий(прооксидантный) комплекс НБК-Fe(III) и антиоксидантный белковый компонент (НБК), который стимулирует изоформ Nox мембран иммунных клеток – лейкоцитов и эритроцитов. Появляется перспектива использования НБК из КПВ при

инфекционных заболеваниях, в частности при Covid-19, при которой наблюдается снижение иммунной активности, в частности, клеток легочной ткани.

Список использованной литературы

1. Симонян М. А., Карапетян А. В., Бабалян М. А., Симонян Р. М., NADPH-содержащая супероксид-продуцирующая липопротеиновая фракция из сыворотки крови, выделение, очистка, краткие характеристики и механизм действия. Биохимия, 1996, 61(5) , 932-938.
2. Симонян Р. М., Агаджанова Е. М., Бабалян М. А., Симонян Г. М., Алексанян С. С., Агаджанов М. И., Симонян М. А. Снижение содержания NADPH оксидазы в эктосомах эритроцитов и ее активирование NADPH содержащим липопротеином сыворотки крови у пациентов при инсулинзависимом диабете. Биол.ж. Армении, 2019, 4 (71) , 6-14.
3. A. S. Isoyan, K. V. Simonyan, R. M. Simonyan, M. A. Babayan, G. M. Simonyan, V. A. Chavushyan, M. A. Simonyan. Superoxide-producing lipoprotein fraction from Stevia leaves: definition of specific activity. BMC Complementary and Alternative Medicine 2019, 19:88-94.
4. Симонян Р. М., Симонян Г. М. , Выделение, очистка и свойства супероксид-продуцирующего ассоциата NADPH содержащего липопротеина с NADPH оксидазой из листьев растений *Rumex* и *Chenopodium Album*. ГГУ, 2019, Сборник Научн .статей, 7, 84-92 .
5. Katsuhiro Shiratake, Enrico Martinoia. Transporters in fruit vacuoles. Plant Biotechnology 2007, 24(1): 127-133.
6. Kedage V. V., Tilak J. C., Dixit G. B., Devasagayam T. P., Mhatre M. A study of antioxidant properties of some varieties of grapes (*Vitis vinifera* L.) .Crit Rev Food Sci Nutr. 2007, 47(2):175-185.
7. Susan S. Percival, Susan S. Percival. Grape Consumption Supports Immunity in Animals and Humans. *The Journal of Nutrition*, 2009, 139 (9): 1801S-1805S,
8. Manuel Olalla. Maria Cruz González, Carmen Cabrera Maria, Carmen López. Optimized Determination of Iron in Grape Juice, Wines, and Other Alcoholic Beverages by Atomic Absorption Spectrometry. Article (PDF Available) in *Journal of AOAC International* 83(1):189-195.
9. Maria Rosaria Provenzano, Hamid El Bilali, Vito Simeone, Nuray Baser. Copper contents in grapes and wines from a Mediterranean organic vineyard. *Food Chemistry* 2010, 122(4):1338-1343.
10. Björn Neu, Samuel O. Sowemimo-Coker, Herbert J. Meiselman. Cell-Cell Affinity of Senescent Human Erythrocytes. *Biophys J.* 2003, 85(1): 75-84.
11. Suchihashi M. Ethanol/chloroform fractionation. *Biochem. Z.*, 140 (1923), pp. 63-112.
12. Misra H. P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 1972, 247(10):3170-75.
13. Durak I., Yurtarslan Z., Canbolat O., Akyol. O. A. Methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin Chim Acta.* 1993, 214(1):103-104.
14. Симонян Р. М., Симонян Г. М., Симонян М. А. Способ выделения изоформ NADPH оксидазы (Nox) из биосистем. Лицензия изобретения агентства индивидуальной собственности PA N2818 A, Ереван, 2014.

15. **H. Luke Anderson, Igor E. Brodsky and Nilam S. Mangalmurti.** The Evolving Erythrocyte: Red Blood Cells as Modulators of Innate Immunity. *J Immunol.*, 2018, 201 (5) 1343-1351.
16. **Ernst Peterhans.** Reactive oxygen species and nitric oxide in viral diseases // *Biological Trace Element Research*, 1997, 56:107–116.
17. **Chen T. P., Roberts R. L., Wu K. G., Ank B. J., Stiehm E. R.** Decreased superoxide anion and hydrogen peroxide production by neutrophils and monocytes in human immunodeficiency virus-infected children and adults. *Pediatr Res.* 1993 34(4):544-50.
18. **Синонян М. А., Карапетян А. В., Галстян Д. А., Симосян Р. М., Бабаян М. А.,** Супероксид-продуцирующий липопротеин как фактор подавления роста опухолей, повышения числа лейкоцитов, ускорения деления клеток в культуре. // *Биохимия*, 1996, 61(9) , 1578-1583.
19. **Алексян М. К., Симосян Г. М., Симосян Р. М., Аракелян Л. Н., Алексян С. С., Симосян М. А. ,** Противоопухолевый и антистрессорный эффект супрола, введенного белым крысам при саркоме-45, *Мед. Наука. Армении*, 2012, LII(3) , 23-35.

**ՆԱԴՐՔԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՂ ՍՊԵՏԱԿՈՒՑԱՅԻՆ ԲԱՂԱԴՐԱՄԱՍ՝ ԿԱՐՄԻՐ ԿԻՍԱՔԱՂՑԻ
ԳԻՆՈՒՑ. ԻՍՈՒՆԱՅԻՆ ԲՋԻՋՆԵՐԻ ՆԱԴՐՔԻ ՕՔՍԻԴԱԶԻ ԻՉՈՁԵՎԵՐՈՎ
ՍՈՒՊԵՐՕՔՍԻԴ ՌԱԴԻԿԱԼՆԵՐԻ ԳՈՅԱՑՄԱՆ ԽԹԱՆՈՒՄ**

ՍԻՄՈՆՅԱՆ ՌՈՒԶԱՆ

*Կենսաքանական գիտությունների թեկնածու, ԳՊՀ դոցենտ, ՀՀ ԳԱԱ
Հր. Բունիաթյանի անվան կենսաքիմիայի ինստիտուտի ավագ գիտաշխատող*

ՍԻՄՈՆՅԱՆ ԳԵՂԱՄ

*Կենսաքանական գիտությունների թեկնածու, ՀՀ ԳԱԱ Հր. Բունիաթյանի անվան
կենսաքիմիայի ինստիտուտի ավագ գիտաշխատող*

Առաջին անգամ եղեգնածորի (Հայաստան) կիսաքաղցր գինուց անջատել և մաքրել ենք սուպերօքսիդ գոյացնող կոմպլեքս՝ կազմված ՆԱԴՐՔ պարունակող սպիտակուցային բաղադրամասից (ՆՍԲ) ու Fe(III) -ից [ՆՍԲ- Fe(III)]: ՆՍԲ- Fe(III) կոմպլեքսից առանձնացրել ենք ՆՍԲ-ն, այն ունի միայն վերականգնիչ (հակաօքսիդանտային) ազդեցություն: ՆՍԲ-ի ու ՆՍԲ- Fe(III) -ի տեսակարար քանակությունը կազմում է 4,5մգ/մլ ($p<0,05$, $n=6$) գինու մեջ: ՆՍԲ- Fe(III) կոմպլեքսի կամ ՆՍԲ-ի ֆլուորեսցենցիայի ինտենսիվությունը հարաբերական միավորներով (F) կազմում է $52,6\pm5,5$ ($p<0,05$, $n=6$). ՆՍԲ- Fe(III) կոմպլեքսում Fe(III) -ը հանդես է գալիս որպես էլեկտրոնի փոխանցման կամրջակ ՆԱԴՐՔ-ից դեպի թթվածնի մոլեկուլ՝ վերականգնելով այն մինչև սուպերօքսիդ ռադիկալ (O_2^-): ՆՍԲ-ն էրիթրոցիտների ու լեյկոցիտների Nox-երի հեմային խմբի Fe(III) -ը նույն մեխանիզմով, հոմոգեն ու հետերոգեն ֆազերում օգտագործում է O_2^- -երի գոյացման համար:

Այսպիսով՝ ստացված տվյալները հիմք են հանդիսանում կարմիր կիսաքաղցր գինուց ստացված ՆՍԲ- Fe(III) կոմպլեքսը, որպես բնական հակամանրէային միջոց, իսկ ՆՍԲ-ն՝ որպես իմունամոդուլատոր կամ իմունային բջիջների (էրիթրոցիտների ու լեյկոցիտների) Nox-ի իզոձևերի խթանման միջոց կիրառելու համար:

Բանալի բառեր: ՆԱԴՐՔ պարունակող սպիտակուցային բաղադրամաս, գինի, NADPH օքսիդազ, ակտիվացում:

NADPH-CONTAINING PROTEIN COMPONENT FROM DEMI-DOUX WINE: STIMULATION OF PRODUCTION OF SUPEROXIDE RADICALS BY THE ISOFORMS OF NADPH OXIDASE OF IMMUNE CELLS

SIMONYAN RUZAN

PhD in Biology,

GSU Assistant Professor,

Senior Scientist of H.Buniatyan

Institute of Biochemistry NAS RA

SIMONYAN GEGHAM

Senior Scientist of

H.Buniatyan Institute of Biochemistry NAS RA

From demi-doux wine of the Eghegnadzor (Armenia) is isolated and purified the superoxide-producing complex of NADPH containing protein component (NPC) with Fe (III), NPC-Fe (III) for the first time. From NPC-Fe (III) was separated NPC, which only possesses the reductive (antioxidative) effect. The specific content of NPC or NPC-Fe (III) is 4,5 mg/ml ($p < 0,05$, $n = 6$) of the wine. The fluorescence intensity of the NPC-Fe (III) complex or NPC in relative units (F) is $52,6 \pm 5,5$ ($p < 0,05$, $n = 6$). The Fe(III) in the complex of NPC-Fe(III) is a electronic bridge from NADPH to molecular oxygen reducing its up to superoxide radical (O_2^-). By this mechanism the NPC is stimulate the process of the production of O_2^- , using the Fe(III) of heme group of the isoforms of Nox of erythrocytes and leucocytes in homogeneous and heterogeneous phase.

Thus, on the basis of above receivable indices, the complex of NPC-Fe(III) from demi-doux wine can be use as a natural antimicrobial agent, and NPC, as a immunomodulator or stimulator of the isoforms of Nox of the immune cells (erythrocytes and leucocytes).

Keywords: NADPH containing protein component, wine, NADPH oxidase, activation.

Հոդվածը ներկայացվել է խմբագրական խորհուրդ 28.08.2020թ.:

Հոդվածը գրախոսվել է 08.10.2020թ.: