

БИОХИМИЯ

УДК 599.332.534-8.535-31.621.375.537.531

Л. Г. Мелконян¹, Р. М. Симонян², Э. С. Секоян³, М. А. Симонян²

Изменения NADPH зависимой супероксидпродуцирующей и ферригемоглобинвосстанавливающей активности цитохрома b_{558} из мембран клеток селезенки и эритроцитов, индуцированные излучением различной природы

(Представлено академиком К.Г. Карагезяном 6/V 2009)

Ключевые слова: лазерное, ультрафиолетовое, ультразвуковое облучение, цитохром b_{558} , активность

Под воздействием X-лучей наблюдается изменение микроструктуры ДНК Т-лимфоцитов, что выражается в увеличении степени апоптоза последних и подавлении активности иммунной системы [1-3], при этом соединения, обладающие антиоксидантной активностью, оказывают протекторное действие. УФ-облучение сопровождается фотодеградацией и усилением перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах эритроцитов [4]. Одновременно отмечаются подавление функции В- и Т-лимфоцитов и повышение продукции активных форм кислорода (АФК) в дыхательной цепи митохондрий с повреждением ДНК. На этом фоне наблюдается повышенная генерация АФК тромбоцитами крови и митохондриями фибробластов с развитием оксидативного стресса [6]. Указанные сдвиги сопровождаются деградированием ДНК, предотвращаемым ИЛ-12 [7], и подавлением иммунной активности [8]. Под воздействием ультразвукового (УЗ) облучения высокой плотности наблюдаются повреждение эритроцитарных мембран (ЭМ), увеличение степени их фрагментации, снижение активности Na/K-АТФазы, усиление гемолиза эритроцитов, подавление иммунной активности организма [7]. Низкоэнергетический He-Ne лазер активирует дыхательную цепь митохондрий, улучшает кислородный гомеостаз [5] и оказывает иммуномодулирующий эффект [9].

Молекулярно-биохимические механизмы функционирования иммунных клеток обусловлены также супероксидными радикалами, продуцируемыми комбинированной NADPH оксидазой, локализованной в цитоплазме и мембранах указанных клеток (в состав NADPH оксидазы входит 5 изоформ цитохрома (цит) b_{558}). При этом процесс продуцирования супероксидных радикалов (O_2^-) и их производных, нейтрализующих антигены, усиливается при фагоцитозе. Цитохромы b_{558} локализованы не только в иммунных клетках, но и в сыворотке крови и ЭМ, при этом новые изоформы цит b_{558} из ЭМ и мембран клеток селезенки (МКС) выделяются и очищаются в электрофоретически гомогенном состоянии без использования детергента, что значительно снижает стабильность указанных гемопротеинов [11]. Цит b_{558} ЭМ и МКС обладают не только NADPH зависимой O_2^- -продуцирующей активностью, но и, как выяснилось недавно, имеют ферригемоглобинвосстанавливающую активность как в гомогенной (в растворе), так и гетерогенной (в ЭМ и МКС) фазах [11]. Фактически цит b_{558} играют ключевую роль не только в функционировании иммунокомпетентных клеток, но и для обеспечения кислородного гомеостаза.

Целью работы являлось изучение влияния X-, УФА-, УЗ- и He-Ne лазерного облучения на NADPH зависимую O_2^- -продуцирующую и метгемоглобин (метHb)-восстанавливающую активности цит b_{558} из ЭМ и МКС *in vitro* и *ex vivo*.

Материал и методы. Лиофилизированные препараты электрофоретически гомогенного цит b_{558} III из ЭМ и МКС (по 200 мг), каталазы из печени и ферригемоглобин из эритроцитов крыс получены биотехнологическим способом с использованием методов ионообменной хроматографии белковых фракций ЭМ и МКС, печени и эритроцитов на целлюлозах DE-52, KM-52, сефадексе DEAE A-50 и гель-фильтрации на сефадексе G-100, G-150 без применения детергента [10].

В экспериментах использованы кровь и селезенка белых крыс-самцов массой 220-250 г. ЭМ промывали 0.04 М калий фосфатным буфером (КФБ), pH 7.4, и смешивали с 200 мл 0.04 М КФБ.

МКС получали из селезенки путем ее гомогенизации в 0.04 М КФБ, удаления ядер и митохондрий и центрифугированием (6000 об/мин, 10 мин) при pH 5.6. Далее осадок МКС промывали водой (1:50 об/об). Осажденные МКС смешивали с 200 мл 0.04 М КФБ.

Лиофилизированные препараты цит b_{558} III из ЭМ и МКС были растворены в 200 мл КФБ (1 мг/мл, плотность оптического поглощения бета-полосы цит b_{558} $A_{530} = 0.25$). В экспериментах использованы образцы цит b_{558} , ЭМ и МКС (по 5 мл). Полученные образцы помещались в стеклянные стаканы диаметром

3 см и подвергались облучению.

В I серии экспериментов образцы подвергали облучению X-лучами дозой 3.5 и 5.25 Гр. X-облучение образцов осуществляли на установке РУМ-1 (СССР) с фильтрами меди и алюминия — 0.5 мм при 20°.

Во II серии образцы подвергали УФА-облучению (на установке "Наповиа", США) при 320-390 нм, с дозой облучения 100 мВ/см² и экспозицией 15 мин при 20°.

В III серии образцы подвергали ультразвуковому облучению с частотой 17 кГц и продолжительностью 45 с при 20°.

В IV серии образцы подвергали He-Ne лазерному облучению с параметрами: длина волны 632.8 нм, мощность излучения 1.1 мВт, плотность излучения 3 мВт/см², энергия облучения 66 Дж, время облучения 10 мин, режим непрерывный. Контрольные образцы цитохромов b₅₅₈ из ЭМ и МКС, а также ЭМ и МКС облучению не подвергались.

NADPH-зависимую O₂⁻-продуцирующую активность цит b₅₅₈ из ЭМ и МКС определяли нитротетразолиевым синим (НТС) методом путем вычисления процента стимулирования образования формазана (при 560 нм) в результате восстановления НТС супероксидными радикалами. К 3 мл реакционной смеси добавляли по 0.2 мл исследуемых цитохромов (для определения активности в гомогенной фазе) или 0.2 мл ЭМ или МКС (для определения активности в гетерогенной фазе). За единицу O₂⁻-продуцирующей активности принимали количество цит b₅₅₈, вызывающее 50% увеличение плотности максимального оптического поглощения формазана при восстановлении НТС супероксидными радикалами.

Для определения метHb-восстанавливающей активности цит b₅₅₈III в гомогенной фазе был использован свежеполученный ферригемоглобин (ферриHb) из крови крыс. Интенсивность оптического поглощения альфа-полосы ферриHb (при 565 нм) составляет 0.8, тогда как интенсивность оптического поглощения бета-полосы цит b₅₅₈III из ЭМ — 0.04. К 3 мл раствору ферриHb добавляли 0.2 мл цит b₅₅₈III, растворенного в 0.04 М КФБ (или 0.2 мл ЭМ, МКС, смешанные в 0.04 М КФБ, для определения активности в гетерогенной фазе) непосредственно в кварцевых кюветах спектрофотометра. После быстрого перемешивания реакционной смеси последнюю инкубировали в аэробных условиях *in vitro* в течение 10 ч при 30°С. Кинетику восстановления ферриHb до ферроHb устанавливали измерением снижения интенсивности поглощения альфа-полосы ферриHb после вторичного перемешивания реакционной смеси. Снижение интенсивности оптического поглощения ферриHb при 565 нм прямо пропорционально образовавшемуся ферроHb при 555 нм. За единицу метHb-восстанавливающей активности принимали количество цит

b_{558} , снижающее плотность альфа-поглощения ферриHb до 0.1 в течение 30 мин.

Степень агрегации (степень потери растворимости) цит b_{558} в растворе при pH 7.4 определяли путем измерения интенсивности оптического поглощения цит b_{558} при 530 нм в надосадочном растворе после облучения.

Оптические спектральные измерения осуществляли на спектрофотометре Hitachi (Япония) с длиной оптического пути 1 см. В ходе экспериментов были использованы центрифуги К-24 и К-70 (Германия). Статистическую обработку полученных результатов осуществляли методом вариационной статистики Стьюдента – Фишера с определением критерия достоверности Р, число опытов в каждой серии экспериментов – 6.

Результаты и обсуждение. Установлено, что в отличие от необлученных ЭМ при их облучении X-лучами *ex vivo* часть полученного из них цит b_{558} III переходила в нерастворимый в 0.04 М КФБ осадок (осадок растворяется в 0.4 М КФБ, pH 9.5 и после диализа против воды получается истинный раствор цит b_{558}). Оптический спектр поглощения данного цит b_{558} несколько отличается от спектра цит b_{558} , не выпадающего в осадок при облучении ЭМ X-лучами в приведенных выше условиях (величина оптического спектрального индекса A_{412}/A_{530} уменьшалась в 1.5-1.7 раза). Аналогичные изменения претерпевает и цит b_{558} в МКС (гетерогенная фаза) после X-облучения этих мембран *ex vivo* (таблица).

В результате непосредственного облучения X-лучами растворов цит b_{558} III из ЭМ и из МКС *in vitro*, хотя агрегации этих гемопroteинов не наблюдалось, происходило снижение плотности характерных для цит b_{558} в окисленном состоянии максимальных оптических поглощений (обесцвечивание) при 560, 530 и 412 нм. Понижение плотности этих поглощений более ощутимо при облучении цит b_{558} из МКС X-лучами *in vitro*. Агрегация цит b_{558} в гетерогенной фазе (в ЭМ или МКС) после X-облучения мембран *ex vivo*, возможно, связана с соответствующим превращением (возможно, некоторым окислением) цит b_{558} III (белок кислого характера) в цит b'_{558} III (белок высококислого характера). С другой стороны, X-облучение ЭМ вызывает снижение уровня высвобождения (рилизинг) из мембран при pH 7.4 цит b_{558} до 55-60%, что также свидетельствует об увеличении степени агрегации цит b_{558} в ЭМ, с соответственным снижением текучести мембран.

Таким образом, установлено, что индуцированная облучением X-лучами агрегация цит b_{558} в ЭМ и МКС – новых функционально-структурных компонентов указанных мембран является новым механизмом снижения текучести ЭМ и МКС в этих условиях, скорее всего, как результат усиления процессов ПОЛ [1]. Снижение плотности максимального оптического погло-

щения цит b_{558} под воздействием X-лучей на растворы цит b_{558} из ЭМ и МКС *in vitro* может быть связано с необратимыми изменениями микроструктуры хромофорной группы указанных гемопротеинов под воздействием образованной перекиси водорода в результате радиолиза воды, поскольку в присутствии 0.1 мкмоль каталазы процесс подобного обесцвечивания цит b_{558} из ЭМ и МКС подавляется на 72-76%. С другой стороны, под воздействием добавленной перекиси водорода (5 мкмоль) наблюдается необратимое снижение плотности максимального оптического поглощения цит b_{558} (обесцвечивание) при 560, 530, 512 нм. С увеличением доз X-облучения до 5.25 Гр указанные изменения, особенно со стороны цит b_{558} МКС в гомогенной и гетерогенной фазах, *in vitro* и *ex vivo* усиливаются.

X-облучение вызывает снижение NADPH зависимой O_2^- -продуцирующей и метHb-восстанавливающей активности цит b_{558} III ЭМ и МКС в гомогенной и гетерогенной фазах (таблица). Следовательно, можно полагать, что толерантность цит b_{558} МКС по отношению к X-лучам более низкая, чем у цит b_{558} ЭМ и, соответственно, снижение NADPH зависимой O_2^- -продуцирующей и метHb-восстанавливающей активности более выражено у цит b_{558} МКС.

После УФА-облучения цит b_{558} из ЭМ и МКС в гомогенной фазе *in vitro*, а также после УФА-облучения ЭМ и МКС (гетерогенная фаза) *ex vivo* изменения уровня и активности этих гемопротеинов в основном схожи с таковыми при облучении указанных биообъектов в аналогичных условиях X-лучами (таблица). УФА-облучение также вызывает необратимое снижение плотности максимальных оптических поглощений (при 530, 560 и 412 нм) цит b_{558} из ЭМ и МКС *in vitro*, причем также более ощутимое в случае цит b_{558} из МКС. Под воздействием УФА в ЭМ и МКС *ex vivo* вновь наблюдается агрегация цит b_{558} в ЭМ и особенно в МКС. Механизмы денатурирующих эффектов УФА-облучения, как и в случае X-лучей, ассоциированы с повышением уровня перекиси водорода, образовавшейся в результате фотолиза водной среды *in vitro* и возможного частичного превращения (окисления) в ЭМ цит b_{558} III в цит b'_{558} III. Допускается, что стимулирование ПОЛ в ЭМ и МКС как при УФА-, так и X-облучении повышает процесс агрегации цит b_{558} в ЭМ и МКС *ex vivo*, вызывая снижение текучести ЭМ и МКС и понижение степени рилизинга цит b_{558} из ЭМ. При этом наблюдается подавление NADPH зависимой O_2^- -продуцирующей и метHb-восстанавливающей активности цит b_{558} в ЭМ и МКС. Под воздействием УФА-облучения водных растворов цит b_{558} *in vitro* наблюдается необратимое снижение плотностей максимальных оптических поглощений цит b_{558} из ЭМ и МКС (при 530, 560, 412 нм) и снижение соотношения A_{412}/A_{530} в 1.3-1.4 раза, по сравнению с показателями не

Относительное изменение (%) уровня NADPH зависимой O_2^- -продуцирующей и метHb-восстанавливающей активности цит b_{558} из МКС и ЭМ *in vitro* и в МКС и ЭМ *ex vivo* после их X-, УФА-, УЗ- и He-Ne лазерного облучения, по сравнению с 100% контрольными показателями (показатели, полученные без облучения этих биообъектов), $P < 0.05$, $n = 6$

А

Исследуемый показатель	X-облучение	УФА-облучение	УЗ-облучение	He-Ne лазерное облучение
NADPH зависимая O_2^- -продуц. активн. цит b_{558} из ЭМ	-26.7 +/-4.3 ($P < 0.03$)	-11.6 +/-4.1	-19.3 +/-1.8	+5.4 +/-0.3
NADPH зависимая O_2^- -продуц. активн. цит b_{558} в ЭМ	-34.2 +/-3.9	-19.4 +/-2.0	-28.3 +/-2.9 ($P < 0.01$)	+14.2 +/-1.1
NADPH зависимая O_2^- -продуц. активн. цит b_{558} из МКС	-31.3 +/-2.9	-24.1 +/-4.0 ($P < 0.03$)	-30.2 +/-3.1	+24.9 +/-3.5
NADPH зависимая O_2^- -продуц. активн. цит b_{558} в МКС	-69.5 +/-4.4 ($P < 0.03$)	-38.9 +/-5.1	-45.3 +/-3.8 ($P < 0.01$)	+40.5 +/-6.1 ($P < 0.03$)
МетHb-восстанавл. активн.цит b_{558} из ЭМ	-18.3 +/-2.9	-21.8 +/-2.3	-44.8 +/-5.1	+59.2 +/-4.3 ($P < 0.03$)
МетHb-восстанавл. активн.цит b_{558} в ЭМ	-41.4 +/-3.6 ($P < 0.01$)	-29.8 +/-3.1	-56.3 +/-4.0 ($P < 0.01$)	+67.3 +/-5.7
МетHb-восстанавл. активн.цит b_{558} из МКС	-22.9 +/-1.8 ($P < 0.03$)	-16.3 +/-1.7 ($P < 0.03$)	-55.3 +/-4.2	+28.5 +/-3.7 ($P < 0.01$)
МетHb-восстанавл. активн.цит b_{558} в МКС	-56.4 +/-3.1	-18.1 +/-4.1 ($P < 0.03$)	-64.7 +/-5.3	+38.9 +/-7.1 ($P < 0.03$)

Б

Степень агрегации цит b_{558} в ЭМ	+28.5 +/-3.5	+20.3 +/-1.8 ($P < 0.01$)	+14.4 +/-2.1	Нет изменений
Степень агрегации цит b_{558} в МКС	+37.5 +/-3.3 ($P < 0.03$)	+27.4 +/-3.1	+16.1 +/-2.3 ($P < 0.01$)	Нет изменений
A_{530} цит b_{558} из ЭМ <i>in vitro</i>	-28.3 +/-3.9 ($P < 0.03$)	-19.7 +/-3.1	-22.5 +/-2.2	Нет изменений
A_{530} цит b_{558} из МКС <i>in vitro</i>	-41.3 +/-5.2	-28.0 +/-3.1 ($P < 0.03$)	-26.1 +/-2.7	Нет изменений

подвергнутых облучению цит b_{558} . Существенно, что в присутствии 0.01 мкмоль каталазы обесцвечивание указанных гемопротеинов уменьшается на 70-75%. Последнее обстоятельство свидетельствует о том, что при УФА- и X-облучении цитохромы b_{558} из ЭМ и МКС претерпевают качественные изменения. Отсутствие процесса агрегации цит b_{558} из ЭМ и МКС после X- и УФА- облучения *in vitro* указывает на то, что отсутствующие в растворе электрофоретически гомогенных цитохромов b_{558} продукты ПОЛ играют определенную роль в процессе агрегации цит b_{558} в ЭМ и МКС при их УФА-облучении *ex vivo*.

Можно констатировать, что при X- и УФА-облучении наблюдается снижение NADPH зависимой O_2^- -продуцирующей и метHb-восстанавливающей активности цит b_{558} из ЭМ и МКС в гомогенной фазе *in vitro* и в ЭМ и МКС, с той лишь разницей, что при УФА-облучении диапазон этих изменений несколько ниже.

При УЗ-облучении ЭМ и МКС *ex vivo* наблюдается стимулирование (на 55-60%) процесса рилизинга цит b_{558} из ЭМ. Процесс высвобождения цит b_{558} из МКС менее выражен (до 14%). Примечательно, что в отличие от воздействия X- и УФА-облучения воздействие УЗ не сопровождается агрегацией цит b_{558} в ЭМ и МКС. Возможно, это связано с тем, что УЗ в большей степени разрывает связи, ответственные за удержание цит b_{558} в мембранах, вызывая усиление процесса солюбилизации указанных гемопротеинов в гомогенную фазу. С другой стороны показано, что механизмы оксидативного повреждения ЭМ и МКС, индуцированные исследуемыми физическими факторами, по характеру мало отличаются и скорее всего связаны с повышением в мембранах ПОЛ [1].

При воздействии УЗ на цит b_{558} из ЭМ и МКС в гомогенной фазе *in vitro* также происходит снижение характерной плотности максимальных оптических поглощений (при 530, 560 и 412 нм) и величины соотношения A_{412}/A_{530} (таблица). Подобный эффект также обусловлен продуцированием перекиси водорода в результате воздействия УЗ, при этом в присутствии каталитических количеств каталазы из печени крыс (0.1 мкмоль) под воздействием УЗ процесс обесцвечивания цит b_{558} из ЭМ и МКС также подавляется (на 60-65%). УЗ-облучение снижает NADPH зависимую O_2^- -продуцирующую и метHb-восстанавливающую активность цит b_{558} ЭМ и МКС в гомогенной и гетерогенной фазах, причем, как и в случае X- и УФА-облучения, УЗ снижает активность более ощутимо у цит b_{558} МКС, особенно в гетерогенной фазе.

Можно констатировать, что как при X- и УФА-, так и при УЗ-облучении в рассматриваемом режиме происходят необратимые качественные изменения цит b_{558} ЭМ и МКС, обусловленные в основном действием перекиси водорода

(липидных перекисей), что можно рассматривать в качестве одного из механизмов необратимого денатурирования гемопroteинов и дестабилизации ЭМ и МКС под воздействием изучаемых физических факторов. В свою очередь, индуцированное X-, УФА- и УЗ-облучением снижение NADPH зависимой O_2^- -продуцирующей и метHb-восстанавливающей активности цит b_{558} из МКС и ЭМ в гомогенной и особенно гетерогенной фазах может способствовать подавлению иммунной активности и нарушению кислородного гомеостаза (метHb не способен переносить молекулярный кислород к клеткам).

Под воздействием He-Ne лазерного облучения NADPH зависимая O_2^- -продуцирующая активность цит b_{558} из ЭМ *in vitro* (гомогенная фаза) и в ЭМ *ex vivo* (гетерогенная фаза) несколько повышается (таблица). Одновременно лазерное облучение цит b_{558} из МКС *in vitro* и в МКС *ex vivo* способствует заметному увеличению NADPH зависимой O_2^- -продуцирующей активности этого гемопroteина. После лазерного облучения метHb-восстанавливающая активность цит b_{558} из ЭМ и МКС и в ЭМ и МКС заметно повышается. Характерными для лазерного облучения являются: отсутствие эффекта агрегации цит b_{558} в ЭМ и МКС, а также существенных сдвигов интенсивности максимальных оптических поглощений цит b_{558} из ЭМ и МКС в видимой части спектра (имеет место небольшое снижение величины отношения A_{412}/A_{530} для цит b_{558} из ЭМ и МКС, в 1.2 раза, по сравнению с контролем), отсутствие стимулирующего действия на процесс рилизинга цит b_{558} из ЭМ. Фактически механизмы действия He-Ne лазерного облучения на NADPH зависимую O_2^- -продуцирующую активность цит b_{558} ЭМ практически не отличаются от таковых у цит b_{558} МКС (таблица).

Фактически He-Ne лазерное облучение способствует интенсификации метаболических процессов в ЭМ и МКС с участием O_2^- . С другой стороны, путем повышения метHb-восстанавливающей активности цит b_{558} ЭМ He-Ne лазерное облучение может в определенной степени корригировать расстройства кислородного гомеостаза. Повышение NADPH зависимой O_2^- -продуцирующей активности цит b_{558} МКС является новым механизмом активирования иммунной системы [9, 12]. При этом наблюдается небольшое снижение оптического спектрального индекса (A_{412}/A_{530}) для цит b_{558} из ЭМ и МКС (в 1.2 раза).

Механизмы положительного действия He-Ne лазера на состояние и активность цит b_{558} в ЭМ и МКС *ex vivo*, возможно, связаны с тем, что He-Ne лазер оказывает антиоксидантное действие путем стимулирования активности локализованной в мембранах каталазы и усилением расщепления продуцируемой перекиси водорода, без генерации гидроксильных радикалов,

образующихся при расщеплении перекиси водорода ионами переходных металлов и являющихся мощными окислителями ДНК, антиоксидантных и прооксидантных металлопротеинов и др. [10]). He-Ne лазерное облучение не только вызывает фотоактивирование каталазы, но и увеличивает окисление (дезактивирование) свободных радикалов, с улучшением кислородного гомеостаза, и оказывает модулирующее действие на иммунную систему [12].

Исходя из данных, свидетельствующих, что цит b_{558III} ЭМ и цит b_{558} МКС (селезенка является органом иммунной системы) обладают NADPH-зависимой O_2^- -продуцирующей и метHb-восстанавливающей активностью [11], выдвигается рабочая гипотеза о возможном участии цит b_{558} не только в клеточно-гуморальных механизмах регуляции иммунной активности, но и в кислородном гомеостазе.

¹Гюмрийский государственный педагогический институт им. М. Налбандяна

²Институт биохимии им. Г. Х. Бунятына НАН РА

³НИИ курортологии и физической медицины МЗ РА

А. Г. Мелконян, Р. М. Симонян, Э. С. Секоян, М. А. Симонян

Изменения NADPH-зависимой супероксидпродуцирующей и ферригемоглобинвосстанавливающей активности цитохрома b_{558} из мембран клеток селезенки и эритроцитов, индуцированные излучением различной природы

После X-, УФА- и ультразвукового (УЗ) облучения новых изоформ цитохрома (цит) b_{558} из эритроцитарных мембран (ЭМ) (цит b_{558III}) и из мембран клеток селезенки (МКС) крыс *in vitro*, а также после облучения ЭМ и МКС *ex vivo* теми же лучами в аналогичном режиме наблюдается подавление с различными диапазонами NADPH-зависимой O_2^- -продуцирующей и ферригемоглобин (ферриHb)-восстанавливающей активности цит b_{558} из ЭМ и МКС в гомогенной (в растворе) и гетерогенной (в ЭМ и МКС) фазе. Эти изменения ассоциируются с дестабилизацией ЭМ и МКС, обусловленной изменением степени агрегации этих гемопротеинов в ЭМ и МКС (при X- и УФА-облучении), и степени их рилизинга из ЭМ и МКС как результат воздействия перекиси водорода, образованной в результате радиолиза и фотолиза водной среды.

После He-Ne лазерного облучения цит b_{558} из ЭМ и МКС *in vitro* и в ЭМ и МКС *ex vivo* наблюдается увеличение NADPH-зависимой O_2^- -продуцирующей и метHb-восстанавливающей активностей цит b_{558} из ЭМ и особенно из МКС в гомогенной и гетерогенной фазах.

Լ. Ն. Մելքոնյան, Ռ. Մ. Սիմոնյան, Է.Ս. Սեկոյան, Մ.Ա. Սիմոնյան

Փայծաղի բջիջների և էրիթրոցիտների թաղանթներից ստացված ցիտոքրոմ b_{558} -ի իզոմերների NADPH-կախյալ սուպերօքսիդի գոյացման և ֆերրիհեմոգլոբինի վերականգնման ակտիվությունների փոփոխությունները՝ հարուցված տարբեր բնույթի ճառագայթումով

Առնետների էրիթրոցիտների թաղանթներից (ԷԹ) և փայծաղի բջիջների թաղանթներից (ՓԲԹ) ստացված ցիտոքրոմ (ցիտ) b_{558} -ի նոր իզոմերների, ինչպես նաև ԷԹ-ների և ՓԲԹ-ների X-ճառագայթման, ուլտրամանուշակագույն և ուլտրաձայնային ճառագայթման հետեւանքով դիտվում է ցիտ b_{558} -ի NADPH-կախյալ սուպերօքսիդի գոյացման և ֆերրիհեմոգլոբինի (ֆերրիHb) վերականգնման ակտիվությունների տարբեր չափաբաժիններով ընկճում՝ հոմոգեն ֆազում (լուծույթում) և հետերոգեն ֆազում (ԷԹ-ներում և ՓԲԹ-ներում): Այս փոփոխությունները համակցված են ԷԹ-ների և ՓԲԹ-ների անկայունացման հետ, պայմանավորված այդ հեմոպրոտեինների՝ ԷԹ-ներում և ՓԲԹ-ներում ագրեգացման և արտազատման աստիճանի, որպես հետեւանք ջրածնի պերօքսիդի ազդեցության:

Յիտ b_{558} -ի նշված իզոմերների, ինչպես նաև ԷԹ-ների և ՓԲԹ-ների He-Ne լազերային ճառագայթման հետեւանքով դիտվում է այդ ցիտ b_{558} -ի NADPH-կախյալ սուպերօքսիդի գոյացման և ֆերրիհեմոգլոբինի վերականգնման ակտիվությունների աճ հոմոգեն և հետերոգեն ֆազերում:

L. H. Melkonyan, R. M. Simonyan, E. S. Sekoyan, M. A. Simonyan

Change of the NADPH Depending Superoxide Producing and Ferrihemoglobin Reducing Activities of Cytochrome b_{558} from Spleen Cells and Erythrocytes Membranes Induced by the Radiation of Different Character

After the X-radiation, UVA-radiation and ultrasound-radiation of new isoforms of cytochrome cyt b_{558} from rats erythrocyte membranes - EM (cyt b_{558} III) and from spleen cell membranes (SCM) in vitro, as well as after the radiation of EM ex vivo, the suppression of both NADPH depending O_2^- -producing and ferrihemoglobin (ferriHb)-reducing activities of cyt b_{558} from EM and SCM in homogeneous (in solution) and heterogeneous phases (in EM and SCM) at various scopes takes place. These changes are associated with the destabilization of EM and SCM, conditioned by the change of the aggregation degree of these hemoproteins in EM and SCM, hemoproteins as a result of the influence of the hydrogen peroxide formed during radiolysis and photolysis of the water medium.

After He-Ne laser radiation of the cyt b_{558} from EM and SCM in vitro an increase of the NADPH depending O_2^- -producing and ferriHb-reducing activities of the cyt b_{558} from EM and SCM in homogenous and heterogeneous phases (in membranes) takes place.

It is supposed that the suppression (by X-, UVA- and US-radiation) and the stimulation (by He-Ne laser radiation) of the immune system activity and the oxygen homeostasis

are associated with the corresponding decrease and increase of the NADPH depending O_2^- -producing and ferriHb-reducing activity of the new isoforms of cyt b_{558} from EM and SCM in homogeneous and heterogeneous phases.

Литература

1. Anand A.J., Dzik W.H., Tmam A., Sadrzadeh S.H. - Transfusion. 1997. V. 37. N 2. P. 160.
2. Cui Y.F., Zhang Y., Liu X.L. et al. - Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi. 2004. V. 20. N1. P. 39-41.
3. Pollycove M., Feinendegen L.E. - Hum. Exp. Toxicol. 2003. V. 22. N6. P. 309.
4. Hsieh C.-L., Yen G.C., Chen H.Y. - J. Agric. Food. Chem. 2005. V. 53. N15. P. 6151.
5. Klamt F., Dal-Pizzol F., Bernard E.A., Moreira J.C. - Photochem. Photobiol. Sci. 2003. V. 2. N8. P. 856.
6. Erden Inal H., Kahraman A. - Toxicology. 2000. V. 154. N1-3. P. 21-29.
7. Schwarz A., Madea A., Kerlebeck K. et al - J. Exp. Med. 2005. V. 201. N2. P. 173.
8. Schade N., Esser C., Krutmann J. - Photochem. Photobiol. Sci. 2005. V. 4. N9. P. 699.
9. Novoselova E.G., Glushkova O.-V., Cherenkov D.A. et al - Photodermatol. Photoimmunol. Photomed. 2006. V. 22. N1. P. 33.
10. Симосян М.А., Симосян Г.М., Симосян Р.М. Способ получения цитохромов b из мембран эритроцитов. Лицензия изобрет. N 908 Армпатента, Ереван. 2001.
11. Simonyan G.M., Simonyan R.M., Simonyan M.A. - Electronic J. of Natural Sciences. 2006. V. 2. N7. P. 3.
12. Karu T.J., Ryabykh T.P., Fedoseyeva G.E., Puchkova N.I. - Laser Surg. Med. 1989. V. 9. N6. P. 585.
13. Потапович М.В., Еремин А.Н., Метелица Д.И. - Прикл. Биохим. Микробиол. 2003. Т. 39. N2. С. 160.
14. Vignais P.V. - Cell Mol. Life Sci. 2002. V. 59. N9. P. 1428.
15. El-Benna J., Dang P.M., Gougerot-Pocidalo M.A., Elbim C. - Arch. Immunol. Ther. Exp (Warsz). 2005. V. 53. N3. P. 199.