

## Механизмы оксидативного повреждения крови, эритроцитарных мембран и металлопротеинов после их УФ-А облучения и инкубирования в аэробных условиях *in vitro*

Р.М.Симонян \*, Э.С.Секоян \*\*, К.К.Хачатрян \*\*,  
Г.М.Симонян \*, М.А.Симонян \*

*Институт биохимии им. Г.Бунятыана НАН РА\*,  
НИИ курортологии и физической медицины МЗ РА\*\**

375028, Ереван, ул. Б.Орбели, 41

375014 Ереван, ул. П.Севака, 5/1

**Ключевые слова:** кровь, эритроцитарные мембраны, металлопротеины, УФ-А облучение, оксидативное повреждение

Острое и хроническое ультрафиолетовое (УФ) облучение (при 320–400 нм – УФ-А и 290–320 нм – УФ-В) клеток кожи, роговицы и хрусталика глаза, а также крови и эритроцитов млекопитающих *in vitro* вызывает увеличение в них уровня активных форм кислорода (АФК) с иницированием ими перекисного окисления липидных компонентов биомембран указанных систем. Отмеченные изменения происходят на фоне снижения эндогенного уровня антирадикальных защитных систем (ферментов, витаминов и др.) [15, 7, 8, 19]. Соединения антиоксидантного действия: Cu,Zn-СОД и каталаза [1], кверцетин [16], ферритин [17], ресвератрол, содержащийся в фруктах и грецком орехе [7], экстракт *ginkgo biloba* [9], мелатонин [8], экстракт *radix Astragali* [30], морфолиновые соли [21] и нифедипин [19] снижают степень оксидативного повреждения биосистем, возникающего под воздействием УФ-облучения. В механизмах канцерогенеза кожи человека определенная роль придается хроническому УФ-В-облучению, при котором на первоначальном этапе наблюдаются воспалительные поражения дермы, ее отечность, лейкоцитарная инфильтрация с повышенным образованием в ней простагландинов. В этих условиях ингибитор циклооксигеназы-2 – целекоксиб, угнетая уровень воспалительных процессов, оказывает противобластомное действие [29]. Повышая интенсивность процессов перекисного окисления [22], УФ-облучение способствует снижению уровня ненасыщенных жирных кислот в мембранах эритроцитов, что сопровождается снижением их текучести [21]. В условиях *in vitro* УФ-А (365 нм) индуцирует предотвращаемый нифедипином фотогемолиз эритроцитов [19].

При УФ - облучении фибробластов человеческой дермы *in vitro* (26 дж/см<sup>2</sup>) наблюдается двухфазный эффект, выражающийся в первоначальном снижении

активности СОД и каталазы, происходящем в результате деградации молекулы ферментов с последующим повышением их активности на конечных этапах облучения, по-видимому, за счет синтеза указанных энзимов *de novo* [26]. В результате острого УФ-облучения плазмы крови происходит фотопероксидация витамина К, билирубина и убихинона с повреждением нативности плазмы [12], сопровождающимся усилением генерации тромбоцитами супероксидных радикалов (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) [14], стимулирующих агрегацию липопротеинов высокой плотности [20]. Острое УФ-облучение (906–4530 дж/см<sup>2</sup>) оказывает повреждающий эффект на некоторые металлопротеины *in vitro*, несколько изменяя форму оптического спектра поглощения каталазы [11] и снижая феррооксидазную активность белка острой фазы – церулоплазмينا (ЦП) [10]. В то же время, если при повышенных дозах острого УФ-облучения в биосистемах усиливается фотолитиз воды с повышением уровня АФК, вызывающих деградацию ряда биосистем, то под воздействием соответствующих низких доз УФ-облучения крови, используемых в физиотерапии ряда воспалительных заболеваний, наблюдается положительный лечебный эффект. При терапии УФ-В-облучением в дерме достигается необходимый уровень антирадикальной защитной системы (Mn-СОД) [23,25], а комбинированное лечение больных УФ-лучами снижает в крови уровень продукта липидной перексидации – малонового диальдегида (МДА), нормализуя тем самым течение свободнорадикальных окислительных процессов и молекулярную упаковку мембран эритроцитов (МЭ) [28]. Для повышения эффективности терапии с применением УФ-облучения необходимо определение и уточнение границы доз и продолжительности облучения. В качестве чувствительных биохимических маркеров с этой целью могут

служить молекулярно-биохимические показатели оксидативного повреждения крови, тесно сопряженные с характеристиками количественных и качественных изменений металлопротеинов (МП) крови – регуляторов метаболизма АФК, в том числе и новых МП сыворотки крови и МЭ прооксидантного действия [5], что и являлось целью настоящего исследования.

## Материал и методы

Кровь (20 мл), взятую у белых половозрелых крыс (220–230 г), стабилизировали 2% р-ром оксалата натрия и помещали в чашки Петри диаметром 10 см. Очищенные МЭ, полученные из 20 мл эритроцитов, смешивали с 20 мл 0,04 М калий фосфатного буфера (КФБ), рН 7,4, вновь помещая в чашки Петри. Электрофоретически гомогенные препараты Cu, Zn-СОД (из крови крыс), каталаза (из печени крыс), трансферрин (ТФ), ЦП из сыворотки крови, а также цитохром b-558 из МЭ крыс растворяли в 5 мл КФБ и помещали в открытые стеклянные стаканы. Опытные пробы: крови (ОПК), МЭ (ОПМЭ) и МП (ОПМ) одновременно подвергали УФ-А-облучению (при 320–390 нм) установкой «Наповиа» (США) с мощностью облучения 10 мВт/см<sup>2</sup> и экспозицией 15 мин. Контрольные пробы: крови (КПК), МЭ (КПМЭ) и МП (КПМ) помещались в аналогичные стеклянные сосуды и не подвергались облучению. Опытные и контрольные пробы после УФ-А-облучения одновременно инкубировали в аэробных условиях *in vitro* при 4<sup>0</sup> С в течение 4 дней в темноте.

МП антиоксидантного (СОД, каталаза, ЦП и ТФ) и прооксидантного действия (цит.б-5, 6 изоформ цит.б-558 из сыворотки крови, МЭ и супероксидпродуцирующий липопротеин сыворотки–супрол) получали биотехнологическим способом путем ионообменной хроматографии и гель-фильтрации белковых фракций сыворотки, растворимой фракции эритроцитов и МЭ на целлюлозах ДЕ-52 и КМ-52 («Whatman», Англия), сефадексе ДЕАЕ А-50 («Pharmacia», Швеция) и биогеле Р-100 («Reanal», Венгрия) [5]. Эритроцитарные мембранные изоформы цит.б-558 выделяли и очищали без использования детергента, заметно снижающего нативность указанных гемопротеинов [4].

Количество МП определяли путем измерения характерной для данного белка плотности максимального оптического поглощения: для цит.б-5 из растворимой фракции эритроцитов – при 525 нм, для изоформ цит.б-558 (цит.б-558 I и б-558 II из сыворотки крови, цит.б-558 III, цит.б-558 IV, нейтрального и сильноокислого характера цит.б-558) – при 530 нм, супрола (супероксид-продуцирующий липопротеин сыворотки) – 430, ЦП – 610, ТФ – 470, СОД – 680 и каталазы – 500 нм.

Супероксиддисмутазную активность фермента и

супероксид-продуцирующую активность цит.б-558, а также супрола определяли нитротетразолиевым синим (НТС) [24] путем измерения процента ингибирования (при дисмутировании супероксидов) или увеличения (при продуцировании супероксидов) образования формазана в результате восстановления НТС супероксидными радикалами. За единицу СОД-активности принимали количество фермента, снижающее продуцирование формазана (при 560 нм) на 50%. Удельная СОД-активность определялась в расчете на 1 мл эритроцитов.

Каталазную активность определяли перманганатометрическим титрованием р-ра перекиси водорода без наличия и в присутствии определенного количества фермента. За единицу каталазной активности принимали количество фермента, расщепляющее 0,1М перекиси водорода за 1 мин при 20<sup>0</sup>С. Удельную каталазную активность определяли в расчете на 1 мл эритроцитов.

За единицу супероксидпродуцирующей активности цит.б-558 III и супрола принимали количество белков, повышающих образование формазана на 50%. Удельная супероксидпродуцирующая активность для цит.б-558 III была рассчитана на 1 мл эритроцитов, а для супрола – на 1 мл сыворотки.

Метгемоглобин (метHb) – восстанавливающую активность цит.б-558 III [27] определяли путем измерения процента увеличения феррогемоглобина (ферроHb) в течение 4 ч при 36<sup>0</sup>С (при 555 нм). За единицу метHb – восстанавливающей активности цит.б-558 III принимали количество гемопротеина, увеличивающее плотность оптического поглощения ферроHb (при 555 нм) до 0,05 в течение 4ч. Удельная метHb – восстанавливающая активность цит.б-558 III была определена в расчете на 1 мл эритроцитов. Оптимальная величина плотности максимального оптического поглощения цитохрома b-558 III в реакционной смеси (3 мл) составляла 0,02 при определении метHb – восстанавливающей активности. ЭПР – спектральные измерения проводили на спектрометре «Varian E-4» (США) с условиями регистрирования сигналов: диапазон напряженности поля – 1000–2000 Гаусс, чувствительность регистрирования спектров – 5×10<sup>2</sup>, температура проб в резонаторе – 196<sup>0</sup>С, модуляция амплитуды – 5 Гаусс, постоянная времени 0,3 сек, микроволновая частота – 9,12 ГГц, продолжительность регистрирования 1 мин. Оптические спектры поглощения и кинетические кривые определения активности регистрировались на спектрофотометре «Hitachi» (Япония) с длиной оптического пробега, равной 1 см при 20<sup>0</sup>С. Статистическую обработку полученных результатов осуществляли методом вариационной статистики с оценкой достоверности по t-критерию Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

### 1. Влияние УФ-А-облучения цельной крови и ее дальнейшего инкубирования в аэробных условиях *in vitro* в течение 4 дней.

Острое УФ-А-облучение цельной крови с ее дальнейшим инкубированием в аэробных условиях *in vitro* в течение 4 дней (срок максимальных изменений параметров крови) сопровождается резким повышением уровня изоформ сывороточных цитохромов b-558 I и b-558 II, а также ТФ и  $O_2$ - продуцирующей активности супрола. Уровень и активность остальных МП анти- и прооксидантного действия снижаются по сравнению с 100% показателями КПК (табл.1). Увеличение уровня ТФ в ОПК, скорее всего, связано с выбросом гемоглобина (Hb) в сыворотку в результате УФ-А-индуцированного гемолиза эритроцитов [5] и разрушения молекулы Hb протеазами. Освобождающиеся ионы Fe(II) захватываются апотрансферрином с превращением его в голотрансферрин (с максимальным оптическим поглощением при 470 нм). Повышение же уровня сывороточных цит. b-558 I и b-558 II, по-видимому, связано с эффектом релизинга цит. b-558 из МЭ [2] и со стимуляцией биосинтеза указанных гемопротеинов *in vitro* под воздействием УФ-А и инкубирования, хотя известно, что белки крови *in vivo* синтезируются в костном мозге. Цит. b-558 I и b-558 II в КПК и ОПК по оптическим спектральным показателям не различаются и, по-видимому, не претерпевают качественных изменений (рис.2).

Биосинтез белков (каталазы и Мп-СОД) наблюдается в фибробластах кожи *in vitro* после УФ-облучения [26,23]. Можно полагать, что противодействующие УФ-А-облучению адаптационные механизмы крови срабатывают не только в условиях *in vivo*, но и *in vitro*. Не исключается, что увеличение уровня сывороточных цит. b-558 сопровождается стимулированием иммунных защитных механизмов и, в частности, супероксид-продуцирующей системы (АФК нейтрализует антигены) [13]. С другой стороны, показано, что цит. b-558 II обладает уникальной способностью защищать некоторые биосистемы крови от повреждающих эффектов перекиси водорода, не проявляя каталазомиметической активности [3]. Последнее обстоятельство приобретает особую значимость, поскольку при остром УФ-А-облучении уровень перекиси водорода увеличивается в сыворотке крови в

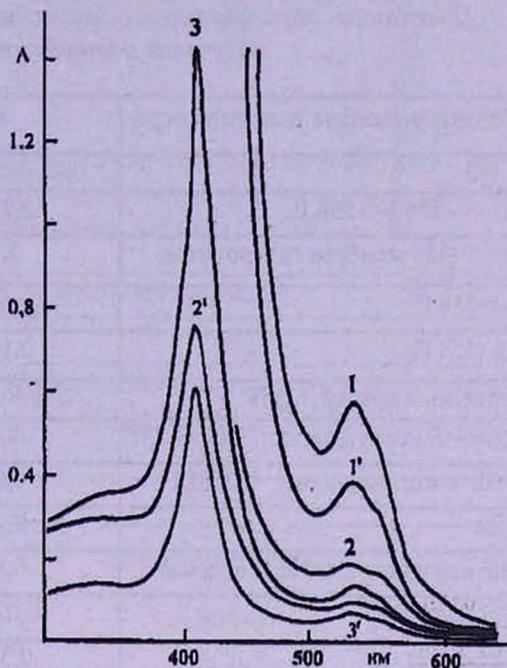


Рис. 2 Оптические спектры поглощения цит. b-558 сыворотки крови и МЭ из КПК и ОПК для: цит. b-558 III (1,1'), цит. b-558 III после его релизинга из МЭ (2, 2'); суммарной фракции сывороточных цит. b-558 I и b-558 II (3, 3').

результате фотолиза воды. Повышение супероксид-продуцирующей активности супрола преимущественно связано с процессом его самоактивирования и повышения липидной перекисидации фосфолипидных остатков в ОПК. Указанные сдвиги могут сопровождаться увеличением самоагрегации супрола и снижением его уровня, что, в свою очередь, может привести к увеличению вязкости сыворотки. Снижение уровня изоформ цит. b-558 МЭ связано с процессом повышения степени их самоагрегации. По своему удельному содержанию цит. b-558 III намного превышает содержание остальных изоформ цит. b-558 МЭ [2]. Самоагрегация цит. b-558 III в ОПК происходит на фоне снижения ее НАДРН-зависимой супероксид-продуцирующей [6] и метHb-восстанавливающей [2] активности (табл.1).

Плотность максимальных оптических поглощений и активность МП после острого УФ-А облучения и инкубирования цельной крови ( $P < 0,05$ ,  $n=8$ )

Металлопротеины и активность	КПК	ОПК	%**
Цит. b-5	0,07±0,01*( $P < 0,01$ )	0,07±0,02 ( $P < 0,01$ )	0
∑ цит. b - 558 I+b 558 II	0,27±0,03	0,49±0,05	+81,4±4,3
∑ цит. b -558 мембран эритроцитов	2,3±0,5	1,2±0,1	-47,5±4,0
Цит. b-558 III	0,61±0,02	0,44±0,02	-27,9±2,4
Цит. b -558 IV	0,14±0,01	0,11±0,04	-21,5±2,2
Нейтральный цитохр. b-558	0,87±0,04 $P < 0,02$	0,51±0,04 $P < 0,03$	-41,4±2,3
Супероксидпродуц. активн. цит. b -558	4,1±0,3	3,0±0,1	-26,9±2,0
Мет Нв восст. активн. цит. b-558III	0,9±0,04	0,7±0,02	-22,3±1,4
Супрол	0,4±0,06	0,3±0,03	-25,4±2,1
Супероксидпродуц. активн. супрола	6,86±1,5	10,6±2,4	+58,2±5,1
Церулоплазмин	0,02±0,004	0,01±0,002	-50,0±2,6
Трансферрин	0,31±0,05	0,55±0,06	+80,5±5,4
Cu, Zn - СОД активн.	140,5±10,4 ( $P < 0,1$ )	95,3±6,1 ( $P < 0,01$ )	-32,2±2,1
Каталазн. активн.	860±32 ( $P < 0,01$ )	547±22 ( $P < 0,01$ )	-36,3±4,0

**Обозначения:**

\* – величины плотностей максимальных оптических поглощений определены в расчете на 10 мл сыворотки, 10 мл эритроцитов и 10 мл объема фракций.

\*\* – приведены относительные изменения уровня и активности металлопротеинов ОПК, по сравнению с 100% показателями КПК.

В ОПК наблюдается определенное нарушение физиологического равновесия между продуцирующими и утилизирующими АФК МП, что приводит к изменению антиоксидантного (суммарный расчетный уровень антиоксидантного действия МП) и прооксидантного статуса (суммарный расчетный уровень прооксидантного действия МП) сыворотки и эритроцитов (табл.2). Процентный состав цит. b-558 МЭ в КПК и ОПК при этом практически не меняется (рис.1, табл.2), хотя баланс между изоформами цит. b-558 МЭ различается в КПК и ОПК (0,70 и 0,16, соответственно). Указанное различие в плотности максимального оптического поглощения (при 530 нм) цит. b-558 составляет уровень агрегированного цит. b-558 МЭ. Снижение текучести МЭ связывается и с повышением степени самоагрегации цит. b-558. Таким образом, молекулярные механизмы оксидативного повреждения крови ОПК при ее остром УФ-В-облучении обусловлены: 1) дисбалансом между продуцирующими и утилизирующими АФК МП; 2) резким повышением уровня сывороточных

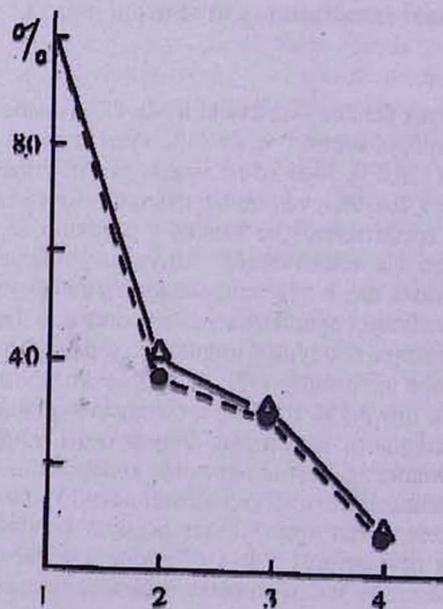


Рис.1 Процентный состав цит. b-558 из МЭ КПК (●) и ОПК (Δ) для суммарной фракции цит. b-558 (1), нейтрального характера цит. b-558 (2), цит. b-558 III (3) и цит. b-558 IV (4)

цитохромов и ТФ; 3) увеличением степени агрегации и потери супероксидпродуцирующей активности цит. b-558 III; 4) возрастанием супероксид-

продуцирующей активности и самоагрегации супрола и повышением вязкости сыворотки.

Таблица 2

Плотность максимальных оптических поглощений (при 530 нм) цитохромов b-558 мембран эритроцитов из КПК и ОПК (1). Антиоксидантный и прооксидантный статусы сыворотки и эритроцитов ОПК по сравнению с 100% показателями КПК (2) ( $P < 0,05$ ;  $n=8$ )

1	Пробы крови	Плотность оптического поглощения	
		A <sub>530</sub>	A <sub>530</sub>
		S цит. b-558 мембран эритроцитов	S цит. b-558 III, b-558 IV, Н. нейтраль. цит. b-558 A'530 - A530 мембран эритроцитов
	КПК	2,32±0,21	1,62±0,11
	ОПК	1,22±0,13	1,06±0,03
2	Компоненты крови	антиокс. статус, %	прооксид.статус, %
	Сыворотка	+30,5±2,1	+56,0±4,8
	Эритроциты	-68,5±5,0	-47,5±2,4

### 2. Влияние острого УФ-А-облучения на состояние МЭ in vitro.

В результате острого УФ-А-облучения МЭ in vitro (ОПМЭ) и их дальнейшего инкубирования при 40°C в течение 4 дней наблюдается подавление процесса рилизинга (высвобождения) цит. b-558 из гетерогенной

фазы (из МЭ) в гомогенную (окружающий раствор). Как и в случае крови, при УФ-А-облучении МЭ наблюдается самоагрегация цит. b-558 и снижение его уровня. Указанное явление более четко выражено у изолированных МЭ, по сравнению с МЭ в составе цельной крови (табл.3).

Таблица 3

Плотность максимальных оптических поглощений и активность металлопротеинов мембран эритроцитов после УФ-А-облучения и инкубирования ( $P < 0,05$ ;  $n=8$ )

Металлопротеины и активность	КПМЭ*	ОПМЭ*	% **
∑ цит. b-558 III (рилизинг)	0,16±0,01 ( $P < 0,03$ )	0,073±0,02 ( $P < 0,03$ )	-54,1±3,2
∑ цит. b-558	0,53±0,06	0,22±0,03	-58,5±2,2
Цит. b-558 III	0,17±0,02	0,05±0,01	-70,6±3,3
Супероксидпродуц. активн. цит. b-558 III	3,92±0,21 ( $P < 0,001$ )	2,15±0,14 ( $P < 0,001$ )	-45,1±4,0
Мет. Нв-восстанавливающая активн. цит. b-558 III	1,0±0,1	0,8±0,05	-20,0±0,5
Нейтральный цит. b-558	0,1±0,02	0,08±0,01	-20,0±1,4
Цит. b-558 IV	0,032±0,006	0,016±0,004	-50,0±4,2

Обозначения: \* – величины плотности максимальных оптических поглощений определены в расчете на 10 мл эритроцитов и 10 мл объема фракций.

\*\* – приведены относительные изменения уровней металлопротеинов (активностей) по сравнению с 100% показателями КПМЭ.

Одновременно в указанных условиях наблюдается снижение НАДРН-зависимой супероксид-продуцирующей и метНв - восстанавливающей активности цит.б-558 III. Можно полагать, что самоагрегация цит.б-558 в гетерогенной фазе и снижение его рилинга связаны с перекисным окислением гидрофобных остатков (включая и фосфолипидные) МЭ, ответственных за протекцию цит.б-558 в этих мембранах (повышение липидной перекисидации в МЭ под воздействием УФ-облучения хорошо известный факт) [10]. Действительно, изолированные МЭ более слабо защищены от АФК, которые инициируют липидную перекисидацию, а МЭ в составе цельной крови обладают достаточно надежной защитой, которая по отношению к АФК после УФА-облучения несколько ослабевает. Не исключается также повреждающее действие на МЭ *in vitro* не только АФК, но и продуктов липидной перекисидации. Следовательно, механизмы окси-

дательного повреждения МЭ в цельной крови и изолированных МЭ при остром УФА-облучении по характеру не различаются и в основном связаны с явлением самоагрегации цит.б-558 в гетерогенной фазе (в МЭ). Указанные механизмы отличаются и по степени агрегирования цит.б-558, которая, как уже отмечалось, значительно выше у изолированных МЭ.

### 3. Оптические спектральные и ЭПР характеристики МП под воздействием УФА-облучения и инкубирования в аэробных условиях *in vitro*.

Оптические и ЭПР-спектральные характеристики, как и активности анти- и проксидантного действия МП, под воздействием острого УФА-облучения изменяются неоднозначно (табл.4). В ОПМ плотность максимального оптического поглощения (при 680 нм) и интегральная интенсивность сигнала ЭПР СОД (рис.3) ее ферментативная активность практически не

Таблица 4

Плотность максимальных оптических поглощений и активностей металлопротеинов КПМ и ОПМ ( $P < 0,05$ ;  $n=8$ )

Металлопротеины и активность	КПМ	ОПМ	% *
Сu, Zn-СОД (А680)	0,14±0,02	0,14±0,03	0
Каталаза (А500)	0,3±0,06	0,27±0,04	-95,4±6,1
ЦП (А610)	0,17±0,02	0,17±0,01	-51,4±3,20
ТФ (470)	0,25±0,02	0,24±0,02	0
Цит. б-558 III (530)	0,6±0,07	0,6±0,05	0
O <sub>2</sub> - прод. активн. цит. б-558 III	5,8±0,2	3,2±0,2	-44,8±3,8
Мет. Нв-восстанавл. актив. цит. б-558 III	1,2±0,08	1,0±0,04	-16,7±0,2
Супрол	0,4±0,05	0,25±0,04	-40,0±3,3
O <sub>2</sub> - прод. активн. супрола	26,4±3,2	44,8±5,3	+69,7±5,1

Обозначения. \* - относительные изменения уровней и активностей металлопротеинов по сравнению с 100% показателями КПМ

отличаются от показателей КПМ. Указанные показатели СОД существенно отличаются от таковых, полученных при облучении X-лучами водных растворов СОД, когда происходит обратимое восстановление меди в активном центре фермента, что объясняется повышенным уровнем АФК в результате радиолиза воды. Примечательно, что если после острого УФА-облучения активность каталазы, ферроксидазная активность ЦП и оптические спектральные показатели последних ощутимых изменений не претерпевают, то через 4-6 дней после УФА-облучения наблюдается полная инактивация каталазы и ЦП с заметным сни-

жением его уровня (50%) и стабильности (рис.3). В ОПМ практически не изменяются уровни ТФ и цит.б-558, хотя отношение  $A_{412}/A_{530}$  (оптический спектральный индекс) в ОПМ меньше, чем эти же показатели цит.б-558 в КПМ. По-видимому, указанные изменения играют ключевую роль в снижении супероксидпродуцирующей и метНв - восстанавливающей активности цит.б-558 III. Можно констатировать, что под воздействием УФА-облучения и инкубирования цит.б-558 *in vitro* происходит его качественное изменение, хотя интенсивность максимального оптического поглощения при 530 нм заметных изменений не претерпевает.

Явления самоагрегации изолированного цит. b-558 III в гомогенной фазе (в растворе) под воздействием острого УФ-А-облучения и инкубирования в отличие от цит. b-558 III в гетерогенной фазе (в МЭ) не наблюдаются. Под воздействием острого УФ-А-облучения (ОПМ) стимулируется самоагрегация супрола и повышается его супероксидпродуцирующая активность. Отмеченные изменения со стороны супрола по амплитуде превосходят таковые, наблюдаемые при УФ-А-облучении супрола в составе цельной крови, что, по-видимому, связано с присутствием в сыворотке крови

ЦП, являющегося энергичным сквенджером супероксидных радикалов и оказывающего антиоксидантное действие путем захвата (переноса) ионов меди и окисления ионов железа [18]. Таким образом, под воздействием острого УФ-А-облучения и инкубирования молекулярно-биохимические механизмы оксидативного повреждения крови, изолированных МЭ и очищенных МП, в основном не отличаясь по характеру, разнятся по степени повреждения, которая более высока в системах с низкой антирадикальной защитой.

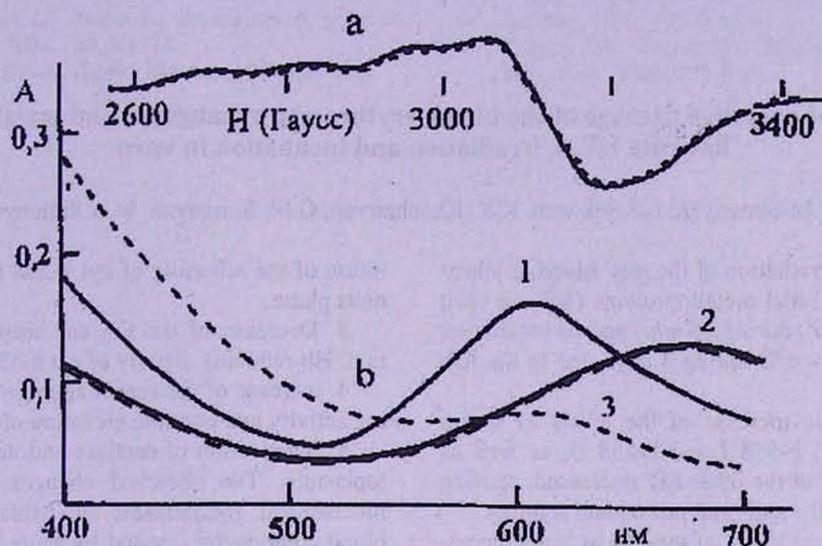


Рис.3 ЭПР и оптические спектры поглощения Cu, Zn-SOD и церулоплазмينا:

а-ЭПР спектр СОД из КПМ (—) и ОПМ (---),

б- оптические спектры поглощения: ЦП из КПМ (1) и ОПМ (3), СОД (2) из КПМ (—) и ОПМ (---)

Следовательно, можно считать установленным, что повышенные дозы острого УФ-А-облучения способны вызывать оксидативное повреждение компонентов крови, реализуемое многоступенчатыми моле-

кулярными механизмами, что диктует необходимость разработки критериев, лимитирующих подбор при проведении УФ-терапии доз и экспозиций облучения.

Поступила 29.03.04

### Արյան, էրիթրոցիտների թաղանթների և մեմբրանայարուցիչների օքսիդատիվ վնասման մեխանիզմները դրանց սուր ուլտրամանուշակագույն-Ա ճառագայթումից և աէրոբ պայմաններում ինկուբացումից հետո in vitro

Ռ.Մ.Սիմոնյան, Է.Ս.Սեկոյան, Կ.Կ.Խաչատրյան, Գ.Ս.Սիմոնյան, Մ.Ա.Սիմոնյան

Առնետների արյունը, էրիթրոցիտների թաղանթները (ԷԹ) և մեմբրանայարուցիչները (ՄՊ) in vitro սուր ուլտրամանուշակագույն-Ա (ՈՒՄ-Ա) ճառագայթման և աէրոբ պայմաններում ինկուբացման հետևանքով՝ 4

օր 4°, (ճառագայթման դոզան – 10mW/սմ<sup>2</sup>, 15μ տևողությամբ) տեղի են ունենում հետևյալ փոփոխությունները. էապես աճում են շիճուկի ցիտոքրոմ (ցիտ) b-558-երի և տրանսֆերինի մակարդակ-

ները: Մյուս ՄՊ-երի քանակները նվազում են առաջացնելով հակա- և պրոօքսիդանտային կարգավիճակների միջև առկա հաշվեկշռի խախտում:

Դիտվում է ցիտ-558-ի ազդեցության խթանում էժ-երում և մեկուսացված էժ-երում, նվազում է ցիտ-558-ի լուծելիությունը և արգելակվում դրա արտազատումը էժ-երից դեպի հոմոգեն ֆազ: Տեղի է ունենում ցիտ-558-ի սուպերօքսիդ գոյացնելու և մեթեմոգլոբինի վերականգնման ակտիվությունների նվազում:

Մեծանում է սուպրոլի ազդեցումը և սուպերօքսիդ գոյացնելու ակտիվությունը, ինչը կարող է բարձրացնել շիճուկի մածուցիկությունը: Դիտվում է կատալազի ակտիվության կորուստ և ցերուլոպլազմինի անկայունացման երևույթ:

Նշված փոփոխությունները կարելի է դիտարկել որպես արյան բաղադրամասերի օքսիդատիվ վնասման նոր մեխանիզմներ, հարուցված սուր ՈՒՄ-Ա ճառագայթմամբ:

## The mechanisms of oxidative damage of the blood, erythrocyte membranes and metalloproteins after its acute UV-A irradiation and incubation in vitro

R.M.Simonyan, E.S.Sekoyan, K.K. Khachatryan, G.M. Simonyan, M.A.Simonyan

The acute UV-A irradiation of the rats' blood, erythrocyte membranes (EM) and metalloproteins (MP) in vitro (the dosage 10 mW/cm<sup>2</sup>, during 15 min) and its incubation in aerobic conditions - 4°C during 4 days, led to the following changes:

1. Only perceptible increase of the levels of serum MP: cytochrome (cyt) b-558 I and b-558 II, as well as transferrin. The levels of the other MP decreased, causing a disbalance between the anti- and prooxidant statuses.

2. Aggregation of cyt b-558 of the EM in the composition of blood or isolated EM, as well as decrease of the solubility of cyt b-558 III, and fluidity of EM and the inhi-

bition of the releasing of cyt b-558 from EM to homogeneous phase.

3. Decrease of the O<sub>2</sub> and methemoglobine production. Hb-reducing activity of cyt b-558 III.

4. Increase of the suprol aggregation, its O<sub>2</sub>-producing activity and possible elevation of serum viscosity.

5. Inactivation of catalase and destabilization of ceruloplasmin. The observed changes are new molecular-biochemical mechanisms of oxidative damage of the blood components, caused by acute UV-A irradiation and incubation.

## Լիտերատուրա

1. *Акимов В.Г., Симонян М.А., Лишманов А.П. и др.* Мат. III Всесоюзной конф. Биоантиоксидант. Тез. докл. М., 1989, с.107.
2. *Симонян Г.М.* Автореф. дис. канд. Оксидативный стресс при злокачественных новообразованиях. Ереван, 2003.
3. *Симонян Г.М., Григорян Г.Г., Симонян Р.М. и др.* Актуальные вопросы военной медицины. Ереван, 1999, с. 48.
4. *Симонян М.А., Симонян Г.М., Симонян Р.М.* Способ получения цитохромов - b из мембран эритроцитов. Лицензия изобрет. N 908. Ереван. 2001.
5. *Симонян М.А., Симонян Г.М.* Способ получения металлопротеинов крови. Лицензия изобрет. Армпатента N 341. Ереван, 1997.
6. *Симонян Г.М., Симонян Р.М., Бабаян М.А., Степанян И.Э. и др.* Мед. наука Армении НАН РА, 2003, 2, с.31.
7. *Afaq F., Adhami V.M., Ahmad N.* Toxicol. Appl.Pharmacol., 2003, 186, p.28.
8. *Anwar M.M., Moustafa M.A.* Comp. Biochem. Physiol. J. Toxicol.Pharmacol., 2001, 129, p.57.
9. *Aricioglu A., Bozkurt M., Balabanli B. et al.* Biol.Trace Elem. Res., 2001, 80, p.175.
10. *Artukov V.G., Basharina O.V., Dobrotina A., Riazantsev S.V.* Rad. Biol. Radioecol., 2002, 42, p.173.
11. *Aubailly M., Haigle J., Giordani A. et al.* J. Photochem. Photobiol., 2000, 56, p.61.
12. *Barclay L.R., Basque M.C., Stephenson V.C., Vingvist M.R.* Photochem. Photobiol., 2003, 78, p. 248.
13. *Batot G., Pacllet M.H., Doussiere J. et al.* Biochim. Biophys. Acta, 1998, 1406, p.188.
14. *Bednarska K., Wachowicz B., Buczynski A.* J.Photochem. Photobiol., 2000, 55, p.109.
15. *Dissermond J., Schneider L.A., Brenneisen P. et. al.* Br. J.Dermatol., 2003, 149, p.341.

16. *Erden Inal M., Kahraman A.* Toxicology, 2000, 154, p.21.
17. *Giordani A., Haigle J., Leflon P. et al.* J. Photochem. Photobiol., 2000, 54, p.43.
18. *Gutteridge J.M.C.* FEBS Lett., 1982, 150, p.454.
19. *Hayase N., Itagaki Y., Atutsu S et. al.* Yakugaku Zassi, 1997, 117, p.202.
20. *Kivatinitz S.C., Pelsman M.A., Alonso A.C. et al.* J. Neurochem., 1997, 69, p.2102.
21. *Kleszcynska H., Oswiecimska M., Witek S et al.* Z. Naturforsch. (C), 1998, 53, p.425.
22. *Mawatari S., Saito K., Murakami K., Fujino T.* Metabolism, 2004, 53, p.123.
23. *Naderi-Hachtroudi L., Peters T., Brenneisen P. et al.* Arch. Dermatol., 2002, 138, p.1473.
24. *Nishikimi M., Rao N.A., Jagik .* Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, 46, p.849.
25. *Sander C.S., Hamm F., Elsner P., Thiele J.J.* Br. J. Dermatol., 2003, 148 (5), p.913.
26. *Shindo Y., Hashimoto T. J.* Dermatol. Sci., 1977, 14 (3), p.225.
27. *Simonyan G.M., Simonyan R.M., Babayan M.A., Simonyan M.A., Galoyan A.A.* Intern. Conf. The role of the biologically active substances in the integrative activity of the organism. Collect. articles. Yerevan, State Med. University, 2003, p.148.
28. *Vishnevski A.A., Tupeev I.R., Toichieva F.M. et al.* Vopr. Kurortol. Fizioter. Lech. Fiz. Kult., 2001, 4, 17.
29. *Wang L., Shen N., Tian Y. et al.* Zhongguo Zhong Yao Za Zhi., 1996, 21(12), p.746.
30. *Wilgus T.A., Parret M.L. Ross M.S. et al.* Adv. Exp. Med. Biol., 2002, 507, p.85.