

В.П. Громова, Г.С. Шаповал

## Вільнорадикальні процеси за участю кисню в біосистемах в умовах ультрафіолетового випромінювання

*Проведен анализ и обобщены литературные данные относительно влияния ультрафиолетового облучения на протекание свободнорадикальных процессов с участием кислорода в биосистемах. Рассмотрены возможные механизмы генерирования кислородных радикалов и антиоксидантной защиты организма в экстремальных условиях. Охарактеризованы методы исследования антиоксидантной активности биологически активных соединений. Представлены результаты собственных исследований антиоксидантной и антирадикальной активности ряда фармпрепаратов разработанным авторами электрохимическим методом.*

Ультрафіолетове випромінювання (УФ) впливає на живі організми протягом віків і є як обов'язковою умовою повноцінної життєдіяльності так і сильним пошкоджувальним фактором. Відсутність його тривалої дії (зокрема УФ-радіації сонця), як і надмірне опромінення, порушує життєдіяльність організму людини, сприяє розвитку різних патологій [6, 8, 9].

Процеси, викликані активацією вільнорадикальних реакцій в організмі під впливом УФ-випромінювання, нині привертають все більшу увагу дослідників. Це пов'язано з тим, що УФ-випромінювання в умовах погіршення екологічної ситуації та радіаційного фону – потужний пошкоджувальний фактор для живих організмів. Тому вивчення корисної чи шкідливої для життєдіяльності взаємодії різних видів випромінювань з біомолекулами, є об'єктом багатьох наукових досліджень, результати яких зможуть вирішити деякі суперечності та уточнити механізм впливу УФ-опромінення на живі організми [9, 31, 39, 41, 57, 58].

*Захисний ефект УФ-випромінювання.* При вивченні впливу УФ-випромінювання на біологічні об'єкти увага експеримен-

таторів зосереджена в основному на аналізі пошкоджувальної, а не захисної дії випромінювання, хоча з практичної точки зору робота в цьому напрямку є досить важливою.

Для лікувально-профілактичного використання УФ-випромінювання наукові дослідження направлені на вивчення механізму його дії на функціональний стан важливих систем організму. Найбільша увага приділялася застосуванню УФ-випромінювання при захворюваннях серцево-судинної системи, органів дихання, алергічних станів. Показана перевага малих і середніх доз безперервного та імпульсного режимів, а також довгохвильового УФ-випромінювання при захворюваннях, що супроводжуються порушенням функцій регулювальних та адаптаційних систем організму [26, 31, 73, 97]. Підвищення життєздатності клітин після УФ-опромінення розглядається деякими авторами як позитивна його дія на клітинному рівні. До цієї категорії можна віднести і неодноразово згадувану в літературі стимуляцію клітинного поділу, яка, можливо, відбувається на тлі інтенсифікації енергетичного обміну в клітинах і прискореного синтезу нуклеїнових кислот і білків [4, 9, 31].

© В.П. Громова, Г.С. Шаповал

Слід зазначити, що характер реакції певною мірою визначається режимом УФ-опромінення. Змінюючи тривалість променевої дії або використовуючи метод повторних опромінь, можна отримати за допомогою однієї і тієї самої дози УФ-опромінення як стимуляцію, так і гальмування клітинного поділу, як підвищення рівня життєздатності клітини, так і загибелі її більшості.

Залежність основних ефектів УФ-променів від довжини хвилі достатньо вивчена на клітинному рівні, проте увагу дослідників привертає той факт, що коротко- та довгохвильові УФ-промені, поглинуті різними компонентами живої клітини, викликають схожі за характером клітинні реакції (стимуляції чи гальмування клітинного поділу, їх подальшої загибелі чи підвищення життєздатності клітин). Як правило, дози довгохвильових УФ-променів при цьому в 5–10 разів вищі, ніж для короткохвильового опромінення.

Фактори, що визначають чутливість клітин до УФ-радіації, різноманітні і не завжди ідентичні при дії коротко- і довгохвильових променів. Пігментовані клітини, зазвичай, більш стійкі, ніж безбарвні чи такі, що містять невелику кількість пігменту. Так, встановлено, що рак незахищених від сонця ділянок шкіри у мешканців південних країн зустрічається переважно у представників білої раси, а для людей з темною шкірою взагалі не характерний [30, 44].

Використання як природного, так і штучного УФ-випромінювання в лікувально-профілактичних процедурах вимагає дуже ретельного підходу, оскільки і для УФ-променів, і для біологічного агента, характерна довготривала післядія, з віддаленою від моменту опромінення загибеллю клітин, а при меншій дозі ураження – довготривалим пригніченням процесу їх поділу. Ефект післядії характерний для коротко- та довгохвильового УФ-опромінення. Він спостерігається і при викорис-

танні малих доз, що виражається навпаки, в тривалій стимуляції клітинного поділу.

Так, використання УФ-опромінення в фізіотерапії в малих дозах сприяє фотосинтезу вітаміну D і проявляє бактерицидну та стимулювальну дію, у великих дозах спричинює почервоніння шкіри (еритему) і може викликати опіки та розвиток ракових пухлин.

Велика увага приділена працям, пов'язаним з дослідженням активації захисних сил організму під впливом УФ-опромінення крові. Спектр захворювань, при яких ефективно застосовували метод, досить широкий. Встановлено, що під впливом УФ-опромінення покращуються реологічні властивості крові та мікроциркуляції, знижується вміст холестерину та в-ліпопротеїнів [39, 44]. Проте одним із ефектів УФ-опромінення на молекулярному рівні є підвищення інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), яке при УФ-опроміненні крові може бути спричинене як збільшенням її оксигенації, так і утворенням вільних радикалів. Активація процесів ПОЛ може призвести до пошкодження мембранних структур клітин крові [20, 22, 55, 68]. Суттєвим є те, що неконтрольоване збільшення інтенсивності ПОЛ є одним із механізмів пошкодження тканин при ішемічній хворобі серця, не виключена можливість розвитку цих процесів при УФ-опроміненні крові, яке найчастіше використовується в лікувально-оздоровчих процедурах. Саме тому найбільший інтерес викликають роботи, в яких досліджувався вплив УФ-опромінення на порушення в системі антирадикального захисту організму [8, 32, 39, 44, 57].

*Пошкоджувальний вплив ультрафіолетового випромінювання.* Під впливом УФ-опромінення в біологічних системах підвищується вміст токсичних інтермедіатів відновлення кисню радикальної природи, які ініціюють і підтримують реакції вільнорадикального окиснення [9, 20]. УФ-випро-

мінювання поглинається в живих клітинах в основному білками та нуклеїновими кислотами. В білках первинною фотохімічною реакцією є фотоіонізація ароматичних амінокислот, чи фотодисоціація – S-S-зв'язків цистину. При цьому утворюються вільні радикали та запускається каскад реакцій, які закінчуються порушенням природної структури білка й інактивацією ферменту. Якщо молекула білка вбудована в ліпідний шар біологічної мембрани, то можуть запускатися ланцюгові реакції в ліпідній фазі. Численні дані свідчать про участь радикалів як у фізіологічному функціонуванні живих клітин і тканин, так і в процесах розвитку деяких патологічних станів, пов'язаних із різним, але обов'язково підвищеним рівнем вільних радикалів, зокрема супероксид-іона, гідроксильного, та інших перекисних сполук у крові та в тканинах [2, 19, 63, 78, 87].

Відіграючи суттєву роль у життєдіяльності організму, молекулярний кисень звичайно не вступає в прямі неферментативні хімічні реакції з органічними сполуками, що входять до складу живих клітин і тканин. Реакція за участю  $O_2$  в живій клітині найчастіше відбувається в активному центрі оксидази чи оксигенази (наприклад, цитохромоксидази чи цитохрому P-450) [33, 35, 80, 83]. Під час цих реакцій продукти відновлення  $O_2$  не виділяються в навколишнє середовище, а підлягають перетворенням до кінцевих сполук у активному центрі ферментів. Разом з тим у біологічних системах можуть утворюватись і всі проміжні продукти відновлення молекулярного кисню: супероксидні, гідроксильні та інші радикали, а також пероксид водню.

За умов УФ-опромінення в біосистемах крім вищезгаданих активних інтермедіатів відновлення кисню (АІК) можуть утворюватись молекули кисню в синглетному стані  $^1O_2$  (основний стан молекули кисню триплетний), які на відміну від молекули

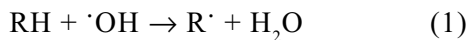
$O_2$  в основному стані, проявляють високу хімічну активність і надалі можуть вступати в реакції окиснення, сприяти генерації гідроксильних та інших радикалів, які призводять до значних порушень у життєдіяльності організму. Під впливом УФ-опромінення внаслідок енергійного утворення проміжних продуктів відновлення кисню та його молекул в збудженому синглетному стані в організмі виникає незбалансована інтенсифікація окисних процесів за участю кисню, так званий “кисневий стрес” [7, 32–36, 76, 79, 92].

У літературі широко обговорюється питання про вплив різних видів випромінювання на ініціювання стартових реакцій «кисневого стресу» в біосистемах [26, 50, 51, 95, 97]. Основний акцент у більшості робіт зроблено на дію короткохвильового ультрафіолетового випромінювання, передусім смуг, довжиною 254, 260 і 265 нм, що пов'язано високу з пошкоджувальною активністю саме цієї частини спектра УФ-випромінювання та сильним поглинанням нуклеїновими кислотами, ключова роль яких у процесі клітинної життєдіяльності добре відома [58, 62, 87, 94, 98]. Водночас ще недостатньо вивчений важливий з практичної точки зору вплив на життєдіяльність організму довготривалого або систематичного УФ-опромінення.

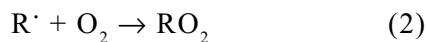
В останні роки через техногенний вплив в атмосфері утворюються так звані “озонові діри” і в результаті послабленого озонowego екрана збільшується потік УФ-радіації, здатний викликати пошкодження дихального ланцюга переносу електронів у мітохондріях, що призводить до різкої зміни вмісту токсичних продуктів одноелектронного відновлення кисню, які можуть ініціювати початкові вільнорадикальні процеси в організмі [3, 38, 59, 65, 70, 71, 73, 75]. Інтенсивне утворення АІК в організмі може бути пов'язане також із несприятливою екологічною та радіаційною обстановкою (особливо це стосується

України), з іншими екстремальними факторами різної природи [51, 64, 93]. Сукупність цих пошкоджувальних факторів сприяє розвитку різних патологічних станів організму [19, 38, 41, 82, 84].

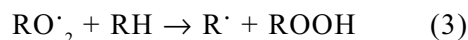
Механізм вільнорадикального окиснення в організмі відповідає загальним закономірностям ланцюгового окиснення [2, 37, 58, 69]. Процес починається стадією ініціювання, причому в ролі ініціатора в основному виступає гідроксильний радикал. Це найбільш реакційноздатний проміжний продукт відновлення кисню, що утворюється в значній кількості під впливом УФ-опромінення та може віднімати атом водню від органічних сполук, наприклад, жирних кислот (RH) з утворенням води й органічного вільного радикала:



Далі радикали ненасичених жирних кислот R взаємодіють з киснем, утворюючи перекисні радикали  $\text{RO}_2\cdot$ , а ті у свою чергу вступають у реакцію з новими молекулами жирних кислот з утворенням  $\text{R}\cdot$

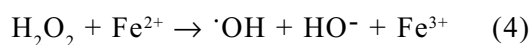


і нагромадженням гідроперекисів ліпідів (ROOH):



У біосистемах особливість вільнорадикального окиснення полягає в тому, що під впливом УФ-випромінювання ланцюгова реакція стає розгалуженою [10,11], і це призводить до значної активації ПОЛ.

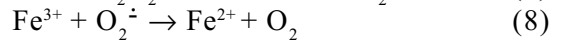
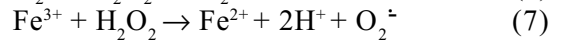
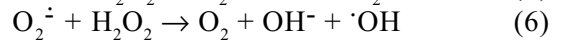
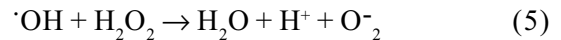
Значну роль у протіканні окисно-відновних реакції за участю радикалів і перекисних сполук відіграють іони перехідних металів. Установлено зв'язок між збільшенням вмісту заліза та інтенсивністю ПОЛ, викликаного гідроксильними радикалами *in vivo* [63,78]. Досить детально вивчена реакція Фентона, у якій іон заліза



каталізує розклад гідроперексиду [2,10,19,

20,69,89]. Ця реакція може відбуватися досить швидко навіть при температурах, нижчих від  $25^\circ\text{C}$ , дія УФ-світла значно прискорює утворення  $\cdot\text{OH}$ -радикалів [11, 59,70].

Далі вона проходить у декілька стадій:



З інтермедіатів кисню пероксид водню вважається найбільш стабільною сполукою і, отже, найменш реакційноздатним. Він утворюється в організмі в результаті одної двохелектронного відновлення кисню, причому в процесі ферментативних реакцій нерідко одночасно з  $\text{H}_2\text{O}_2$  утворюється і супероксидний радикал [2, 21, 57, 69]. Довгий час вважали, що пошкодження клітин у результаті “кисневого стресу”, викликане в основному супероксид-іоном. Згідно з сучасними уявленнями пошкоджувальна дія кисню зумовлена не стільки супероксидом, скільки активними продуктами подальших його перетворень – пероксидом водню, гідроксильними радикалами, а також радикалами, що утворюються при розпаді гідроперексидів ліпідів. Здатність клітини чинити опір “кисневому стресу” ставить під сумнів токсичність не тільки пероксиду водню, але і  $\cdot\text{O}_2^-$ , на яких базується супероксидна теорія кисневої токсичності. Ці агенти вже не розглядаються як такі, що викликають принципові морфологічні та функціональні порушення в клітинах [20, 52, 60, 91]. Це підтверджує і той факт, що  $\text{H}_2\text{O}_2$  і  $\cdot\text{O}_2^-$  в ряду активних інтермедіатів кисню характеризуються низьким окисним потенціалом.

Нині значна увага приділяється дослідженням ролі активних інтермедіатів кисню у розвитку запрограмованої загибелі клітин – апоптозу, особливостям окиснювального стресу за умов індукції запрограмованої загибелі клітин [18, 21, 31]. В живому організмі руйнівна дія активних інтер-

медіатів кисню значно інгібується системою антиоксидативного захисту, порушення якої може призвести до загибелі клітини. Незважаючи на очевидний взаємозв'язок окиснювального стресу з апоптозом, регульовальна роль активних інтермедіатів кисню у саморуїнуванні клітин і механізмах їх реалізації недостатньо з'ясована. В багатьох працях не проводиться аналіз механізмів продукції активних інтермедіатів кисню і активності антиоксидантних ферментів. Тому твердження про провідну роль окиснювального стресу в індукції апоптозу клітин не може бути однозначним і потребує більш детального вивчення [21, 40, 61, 74].

З'ясування причин пошкодження клітин в умовах УФ-опромінення зводиться до пошуку реактивних сполук, що утворюються після взаємодії клітини з окисником. Вважається, що пероксид водню небезпечний імовірніше тому, що, реагуючи із супероксидним радикалом за участю металів змінної валентності, головним чином залізом ( $Fe^{2+}$ ), він може призводити до утворення гідроксильного радикала (реакція Хабера–Вайса), що проявляє надзвичайну біологічну активність [10,20]. Це ще більше підкреслює роль  $\cdot OH$  у кисневому обміні живих систем. Якщо ж у реакції з пероксидом водню замість супероксидного радикала бере участь двоцвалентний іон заліза чи одновалентний іон міді, то вона проходить за схемою:

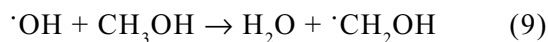


Оскільки радикал  $\cdot OH$  – найсильніший з відомих окиснювачів, то його утворення в цих реакціях стає визначальним фактором токсичної дії кисню. Внаслідок високої хімічної активності час життя  $\cdot OH$ -радикалів у клітині становить близько 100 мкс, а відстань, що вони встигають пройти від місця їхнього утворення, не перевищує 100 нм [90]. Таким чином, ефективність дії  $\cdot OH$ -

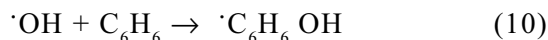
радикалів буде залежати від місця їх утворення. Наприклад, утворення  $\cdot OH$ -радикалів поблизу молекули ДНК спричинює модифікацію основи чи розриву одного або обох ланцюгів ДНК [81]. Взаємодія  $\cdot OH$  з біомолекулами звичайно призводить до утворення іншого менш реакційноздатного радикала, що спроможний до дифузії і до продовження ланцюгової реакції внаслідок взаємодії з новими молекулами. Прикладом такого ланцюгового процесу може бути перекисне окиснення ненасичених ліпідів, ініційоване гідроксильними радикалами [34, 63].

Для  $\cdot OH$ -радикалів можна виділити такі основні типи реакцій:

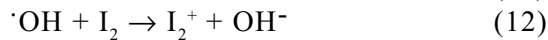
1) відрив атома водню від органічної молекули і утворення радикала



2) приєднання до молекули по подвійному зв'язку



3) перенос електрона



4) рекомбінація та реакції з іншими радикалами



Так, взаємодія  $\cdot OH$  з лецитином, основним компонентом біологічних мембран, відноситься до першого типу реакцій і є основною при ініціюванні ПОЛ у мембранах. Сюди ж відноситься і реакція  $\cdot OH$  з цукрами, наприклад дезоксирибозою, що входить до складу основ ДНК.

До другого типу реакцій відносяться реакції взаємодії  $\cdot OH$ -радикалів з пуриновими та піримідиновими основами ДНК і РНК. Взаємодія  $\cdot OH$  з тиміном призводить до утворення вторинних радикалів, які можуть пошкоджувати інші основи та цукри, а також викликати розриви ланцюгів нуклеїнових кислот. Таке пошкодження

може призвести до мутації і загибелі клітини.

Нагромадження інтермедіатів кисню і їх взаємодія в клітині, що неминуче спричинює до появи радикалів  $\cdot\text{OH}$ , зумовлює ушкодження життєво важливих білкових, у першу чергу ферментних структур, які внаслідок окиснення швидко втрачають свою біологічну активність. До числа таких ферментів, що піддаються впливу радикалів  $\cdot\text{O}_2^-$  і  $\cdot\text{OH}$ , відносяться сукцинатдегідрогеназа, цитохромоксидаза та ксантинооксидаза [23, 83, 90].

Гідроксильний радикал, що утворюється в реакціях (4,6), являє собою досить серйозну загрозу для тих структур клітини, в яких утворюється пероксид водню. Ці структури захищені ферментними системами, здатними руйнувати пероксид водню. Однак практично не існує доказів того, що ці захисні ферментні системи активно діють упродовж життя клітини, що гідроксильні радикали не можуть викликати пошкодження в менш захищених ділянках, ініціюючи реакції вільнорадикального ланцюгового окиснення.

Механізми антиоксидантного захисту. Токсичність кисню й активних інтермедіатів його відновлення зумовила необхідність постійного функціонування в організмі спеціальних механізмів антиоксидантного захисту [19, 22, 23, 76, 78]. Ці механізми спрямовані в першу чергу на гальмування процесів вільнорадикального окиснення біомолекул і відіграють важливу роль у життєдіяльності організму.

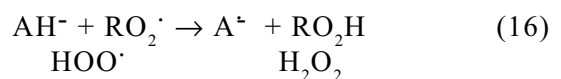
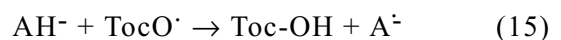
Деякі автори значну увагу приділяють розгляду адаптивної реакції організму на вплив високих доз пошкоджувальних агентів, у тому числі радіації та УФ-випромінювання, після попередньої їх дії в малих дозах на клітини та цілісний організм. Основними механізмами адаптації організму на молекулярному та клітинному рівні є стимуляція систем захисту, але єдиного механізму адаптивної відповіді на

дію різних пошкоджувальних агентів не існує [18, 28].

Екзогенні антиоксиданти здатні підвищувати інтенсивність адаптивної реакції на УФ та інші види опромінення. Вважається, що адаптогенна дія антиоксидантів зумовлена попередженням активації вільнорадикального окиснення, викликаного кисневим стресом внаслідок взаємодії з похідними цього процесу [16, 17, 29, 32].

Механізм дії антиоксидативної системи захисту організму може реалізуватися як через зниження вмісту активних форм кисню або радикалів, що утворилися внаслідок обриву ланцюгів вільнорадикальних реакцій, що забезпечується дією специфічної ферментативної та неферментативної антиоксидативної системи, так і усуненням пулу металів змінної валентності (заліза та міді) внаслідок зв'язування їх з білками (трансферин, лактоферин, церулоплазмін), а також з низькомолекулярними сполуками, наприклад сечовиною, що усуває можливість їхньої участі у вільнорадикальних реакціях [19, 22].

Як антиоксиданти використовують значну кількість біологічно активних органічних сполук, що відносяться до різних фармакологічних класів [12, 29, 32, 93]. На прикладі таких антиоксидантів, як  $\beta$ -каротин, аскорбінова кислота-  $\text{AH}_2$  (вітамін С), сечова кислота,  $\alpha$ -токоферол (вітамін Е), здатних гальмувати ланцюгові вільнорадикальні процеси, показано їх реакції з гідроксильними чи іншими радикалами з утворенням нових радикалів менш реакційноздатних до розгалуження ланцюгової реакції:



Вітамін Е ( $\alpha$ -токоферол-Тос-ОН) – найважливіший антиоксидант в організмі,

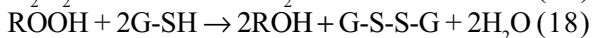
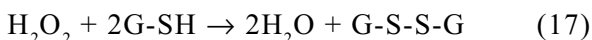
знаходиться в клітинних мембранах. Антиоксидативну активність токоферолів пов'язують в основному з їх взаємодією з перекисними сполуками органічної природи. Фенольні радикали токоферолів, що утворюються, стабільні і не взаємодіють з ненасиченими жирними кислотами, тому не беруть участь у продовженні ланцюгових реакцій. З іншого боку, вони можуть здійснювати обрив ланцюга при взаємодії з перекисними радикалами жирних кислот [11, 38]. Так само діє і  $\beta$ -каротин, який сприяє зниженню швидкості ПОЛ, однак антиоксидативна активність його менш виражена порівняно з вітаміном Е. В досліджах *in vitro* показано, що  $\beta$ -токоферол і аскорбінова кислота можуть виступати в процесах перекисного окиснення як синергісти [78]. Крім того, вітамін С є одним з найбільш ефективних антиоксидантів, який, крім захоплення гідроксильних радикалів, захищає від УФ-опромінення за допомогою гасіння фотозбуджених молекул або хімічної взаємодії з ними. Сечова кислота в водному середовищі також є пасткою для  $\cdot\text{RO}_2$  чи  $\cdot\text{OH}$ -радикалів, крім того, вона утворює комплекси з  $\text{Fe}^{3+}$ , які не окиснюють аскорбат; це в свою чергу залучає другий тип захисної дії, усунення заліза із сфери реакції Фентона.

Важлива роль у регуляції вільнорадикальних процесів в організмі належить і амінокислотам. Активно включаються в ці процеси сірковмісні амінокислоти, в яких SH-групи беруть участь у взаємодії з активними формами кисню і перекисними радикалами. Крім того, акцептування амінокислотами активних форм кисню може бути пов'язане не тільки з SH-, але й з аміногрупами [20, 29, 49].

Крім участі в проходженні багатьох реакцій метаболізму, транспорту, трансформації ксенобіотиків і ліків GSH, цистеїн та інші сірковмісні сполуки відіграють важливу роль у захисті клітин від активних форм кисню, органічних пероксидів, вільних

радикалів, які виникають під впливом іонізуючої радіації, УФ-опромінення, ультразвуку чи інших фізико-хімічних чинників [49, 77].

За фізіологічних умов у клітинах процеси окиснення ліпідів досить загальмовані через наявність у мембранах молекул антиоксидантів, які здатні блокувати ланцюгові реакції окиснення. Так, пригнічення активності ПОЛ в організмі відбувається за наявності глутатіон-GSH-пероксидази в результаті реакцій:



Глутатіонпероксидаза – один із основних захисних ферментів організму проти дії активного кисню [29, 33].

У живій клітині регуляція вільнорадикального окиснення здійснюється в основному на початковій стадії розвитку токсичної дії супероксидного чи гідроксильного радикалів. Механізми захисту *in vitro* від руйнівної дії АІК при дослідженнях на моделях в умовах УФ-опромінення повинні бути подібні до природних систем захисту [22, 27, 67, 68] і зводити до мінімуму утворення їх в організмі, а також інактивувати ті з них, утворення яких не удалось уникнути.

*Антиоксидативна активність фармакологічних препаратів.* Для гальмування вільнорадикальних процесів, викликаних зокрема УФ-опроміненням, широко застосовують біологічно активні сполуки, що проявляють антиоксидативну активність. До них відносяться препарати як синтетичного, так і природного походження. Використання останніх є особливо перспективним, оскільки вони легко й органічно вступають у метаболічні процеси в організмі та практично не мають побічних ефектів [17, 23, 25, 32].

Вибір антиоксидантів, здатних впливати на певні стадії вільнорадикальних процесів за участю кисню, визначення анти-

окиснювальної активності фармпрепаратів – відомих і потенційних антиоксидантів – досить складне завдання. Нестабільність – головна причина методологічних ускладнень під час вивчення утворення та дії радикальних продуктів за наявності біологічно активних сполук (БАС). Методи, що застосовуються нині для оцінки антиокиснювальної активності *in vitro*, передбачають визначення вмісту продуктів ПОЛ за пригнічуванням накопичування малонового діальдегіду (МДА) [17, 42], чи за реакційною здатністю лікарських препаратів вступати в реакції зі стабільними радикалами, зокрема, зі зв'язуванням з дифенілпкірилгідразилом (ДФПГ), яке оцінюють за спектрами поглинання, характерними для ДФПГ [5, 6].

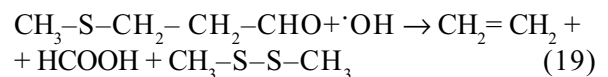
Однак молекула ДФПГ не є досить коректною моделлю радикальних конструкцій живих систем і, крім того, в умовах УФ-опромінення, при взаємодії ДФПГ із гідропероксидами та вільними радикалами утворюється надзвичайно складна суміш продуктів. Іншою особливістю, що утруднює дослідження, є його помітна чутливість до дії світла – у кристалічному стані і у розчинах при опроміненні світлом з довжинами хвиль 313 і 520 нм ДФПГ швидко руйнується.

Ці методи досить довготривалі, і як деякі інші (ЕПР-спектроскопія, хемілюмінесцентний метод) [1, 24, 56, 66] в основному полягають в ідентифікації та кількісному визначенні кінцевих продуктів реакції, тоді як у живих системах найбільш важливою є регуляція вільнорадикальних процесів на стадії ініціювання (пригнічення токсичної дії супероксидного чи гідроксильного радикалів). Серед методів виявлення гідроксильних радикалів слід визначити три основні групи: 1) метод ЕПР; 2) хроматографічні методи, що дають можливість виявляти продукти гідроксилування органічних сполук, які утворилися за участю гідроксильних радикалів; 3) хімічні методи,

основані, наприклад, на визначенні етилену, що утворюється з метионалем за наявності гідроксильних радикалів.

Метод ЕПР дає змогу безпосередньо виявляти вільні радикали, якщо їхня концентрація підтримується на рівні  $10^{-6}$ – $10^{-7}$  моль/л під час виміру. Оскільки звичайно радикали нестабільні, реєстрація їх можлива лише за допомогою спеціальних методик. Одне з рішень – використання струйних методів, у яких постійна та висока концентрація радикалів підтримується внаслідок безперервного змішування реагентів [43]. Однак вони потребують великих обсягів при високих концентраціях реагентів і практично непридатні, коли йдеться про вивчення біохімічних об'єктів.

Часто методами виявлення гідроксильних радикалів є визначення кількості етилену в реакції  $\cdot\text{OH}$ -радикалів з метионалем чи 4-метилтіо-2-оксималяною кислотою [53]. Утворення етилену з метионалю проходить відповідно до сумарної реакції:



Однак ця реакція може проходити не тільки за наявності  $\cdot\text{OH}$ -радикалів, але й інших сильних окисників, наприклад алкоксильних і перекисних радикалів [63]. Крім того, у цих реакціях беруть участь деякі побічні продукти, здатні реагувати з досліджуваними препаратами, що ускладнює визначення  $\cdot\text{OH}$ -радикалів. Можливо, що саме цим можна пояснити відсутність кореляції пригнічувальної активності досліджуваних БАС відносно гідроксильних радикалів [76].

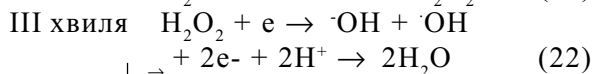
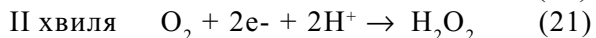
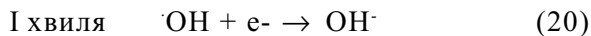
Згадані методи не дають можливості чітко реєструвати активні інтермедіати кисню у водних середовищах, особливо за умов УФ-опромінення. Проведення таких досліджень пов'язане зі значними методологічними труднощами, які викликані



необхідністю одночасного генерування гідроксильних радикалів, пероксиду водню та реєстрації зміни їх кількості під впливом досліджуваних сполук.

Одним із перспективних підходів до дослідження активних інтермедіатів відновлення кисню, що дає змогу реєструвати радикальні продукти його відновлення за наявності БАС, може бути на нашу думку метод імпульсної вольтамперометрії. Оскільки кисень і реактивні форми його відновлення беруть активну участь в ініціюванні ланцюгових вільнорадикальних процесів в організмі, а вода – один із найважливіших біологічних розчинників, то можливість фіксувати реактивні форми кисню у водних (у тому числі фізіологічних розчинах) при УФ-опроміненні відкриває можливість моделювати *in vitro* ці процеси та досліджувати вплив різних БАС – відомих і потенційних антиоксидантів на певній стадії відновлення кисню.

Авторами огляду розроблено принципово нові підходи до дослідження антиоксидантної та антирадикальної активності низки фармпрепаратів [13, 16, 45, 47, 86]. Використовуючи метод імпульсної вольтамперометрії [13, 16], при певних умовах поляризації електродів з життєво важливих металів, зокрема мідного електроду, у розчині 0,1M хлориду натрію нам вдалося реєструвати радикальні продукти відновлення кисню, зокрема гідроксильні радикали, що утворюються в процесі одноелектронного відновлення пероксиду водню, тобто виділити три стадії відновлення кисню, що характеризуються такими хвилями:



До деякої міри вдається моделювати утворення гідроксильних радикалів, що проходить в організмі за участю іонів металів змінної валентності (Fe, Cu), які і є

каталізаторами процесу їхнього утворення в організмі (реакції Фентона і Хабер-Вайса).

Проведені дослідження лягли в основу розробленого експрес-методу, що дає змогу оцінювати ефективність як антиоксидативної, так антирадикальної дії досліджуваних БАС і механізм їх дії за змінами у морфології і кількісних показниках вольтамперної кривої відновлення кисню за наявності цих сполук [48 85,86].

Антиоксидативну активність оцінюють за величиною пригнічення хвиль гідроксильних радикалів (I) та пероксиду водню (III) за наявності досліджуваних фармпрепаратів:

$$A = (h_0 - h) / h_0 = \Delta h / h_0$$

де  $A$  - антиоксидативна активність,  $h_0$  - висота хвилі відновлення гідроксильних радикалів чи пероксиду водню без досліджуваних препаратів,  $h$  - висота хвилі відновлення гідроксильних радикалів чи пероксиду водню за наявності досліджуваних препаратів.

Можливості методу продемонстровано на дослідженнях низки БАС, які відносяться до різних фармакологічних класів – відомих і потенційних антиоксидантів [14, 15, 46, 48, 49].

У таблиці показано вплив досліджуваних препаратів на хвилі відновлення гідроксильних радикалів (I) та пероксиду водню (III), а також представлено концентрації їх максимальної ефективності. Збільшення значень антиоксидативної активності по хвилі гідроксильних радикалів та пероксиду водню відповідає збільшенню антирадикальної та антиоксидативної активності відповідно.

Використання електрохімічного методу дає змогу проводити ефективний скринінг реакційної здатності БАС, значно скоротити час і затрати на оцінку антирадикальної та антиоксидативної активності фармпрепаратів і, можливо, розширити спектр показань до їх застосувань як антиоксидантів, досліджувати механізм сумісної дії препаратів.

## Порівняння антиоксидативної активності відомих і потенційних антиоксидантів

Досліджувані препарати	Концентрація максимальної ефективності, ммоль/дм <sup>3</sup>	Антиоксидативна активність $A = \Delta h / h_0$	
		за хвилину гідроксильних радикалів	за хвилину пероксиду водню
Аскорбінова кислота	2,6	0,80	0,73
Саліцилова кислота	0,58	0,24	0,1
Ацетилсаліцилова кислота	0,76	0,22	0,12
Лимонна кислота	0,45	0,66	0,85
Нікотинова кислота	0,78	0,0	0,33
Нікотинамід	0,99	0,04	0,35
Емоксипін	1,6	0,18	0,32
Кверцетин	0,03	0,12	- 0,17
Аскорбінова кислота та кверцетин	1,04 $+4.0 \cdot 10^{-3}$	0,71	0,63
Цистеїн	0,38	0,19	0,27
Ацетилцистеїн	0,38	0,25	0,38
Бемітил	0,023	0,82	0,78
Томерзол	0,128	0,73	0,81
Аспарагінова кислота	0,9	0,19	0,56
Глутамінова кислота	1,07	0,10	0,32
Аспарагін	1,07	-0,41	0,38
Глутамін	1,23	-0,11	0,17
Глутатіон	0,48	0,29	0,75

Представлені в огляді дані охоплюють лише частину можливих процесів, що спостерігаються в біосистемах за участю кисню в умовах УФ-опромінення. Подальші дослідження в цій галузі дозволить більш глибоко розуміти роль вільних радикалів, реактивних форм кисню в процесах життєдіяльності під впливом різних екстремальних факторів.

V.F. Gromova, G.S. Shapoval

### FREE RADICAL PROCESSES INVOLVING OXYGEN IN BIOSYSTEMS UNDER ULTRA-VIOLET RADIATION

Literary data concerning the influence of ultra-violet radiation on redox processes with participation of oxygen in biosystems are analyzed and generalized. The possible mechanisms of oxygen radicals' generation and antioxidant protection in humans under extreme conditions are considered. The methods of research of antioxidant activity of biologically active compounds are characterized. Using electrochemical method developed by the authors, the results of investigations of antioxidant and anti-radical activities of a wide number of medications are presented.

*Institute of bioorganical chemistry, NAS of Ukraine*

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Афанасьев В.А., Заиков Г.Е. Физические методы в химии. – М.: Наука, 1984. – 174с.
2. Афанасьев И.Б. Кислородные радикалы в биологических процессах // Хим.-фарм. журн. - 1985. - 19, №1. - С. 11–23.
3. Барабой Е.А., Ялкупт С.И. Концентрация фармакологического захисту від дії хронічного радіаційного та екологічного стресу // Фарм. журн. – 1996. – №2. – С. 19–24.
4. Биологическое действие ультрафиолетового излучения. – М.: Наука, 1975. – 280 с.
5. Благородов С.Г., Шепелев А.П., Дмитриева И.А. и др. Определение антиокислительной активности химических соединений // Хим.-фарм. журн. – 1987. – №3. – С. 292–294.
6. Богатырева С.Г., Бучаченко А.Л. Реакции электронно-возбужденных радикалов и тушение возбужденных состояний радикалов // Усп. химии. – 1975. – 44, №12. – С. 2171–2204.
7. Болдырев А.А. Окислительный стресс и мозг // Сорос. образ. журн. – 2001. – 7, №4. – С. 21–28.
8. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в первичных фотобиологических процессах // Биол. мембраны. – 1998. – 15, вып 5. – С. 517–529.
9. Владимиров Ю.А. Инактивация ферментов ультрафиолетовым облучением // Сорос. образ. журн. – 2001. – 17, №2. – С.20–27.
10. Воейков Л.В., Баскаков И.В., Кафкалияс К., Налетов В.И. Инициация сверхслабым УФ-облучением или

- перекисью водорода вырожденно-разветвленной цепной реакции дезаминирования глицина // Биоорганическая химия. – 1996. – **22**, №1. – С. 39–47.
11. Гольштейн Н. Активные формы кислорода как жизненно необходимые компоненты воздушной среды // Биохимия. – 2002. – **67**, вып.2. – С. 194–204.
  12. Гриневич Н.И., Баландина И.А., Ермакова В.А. Лекарственные растения / Под ред. Н.И. Гриневича. – М.: Высш. школа, 1991. – 398 с.
  13. Громова В.Ф., Шаповал Г.С., Кухарь В.П., Пивень В.И. Электрохимическое моделирование элементарных стадий окислительно-восстановительных реакций в биосистемах // Доп. НАН України. – 1995. – №3. – С. 92–94.
  14. Громова В.П., Шаповал Г.С., Миронюк І.Є. та ін. Деякі особливості дослідження антиоксидантної активності 6-метил-2-етил-піридин-3-олу-гідрохлориду (емоксипіну) // Фізіол. акт. речовини. – 2002. – №1(33). – С. 87–90.
  15. Громова В.Ф., Шаповал Г.С., Миронюк І.Є. Исследование антирадикальной и антиокислительной активности биологически активных карбоновых кислот // ЖОХ. – 2002. – **72**, вып. 5. – С. 828–831.
  16. Громова В.П., Омелянчик Л.О., Бражко О.О. та ін. Дослідження антиоксидантної активності тіопохідних хіноліну // Укр. біохім. журн. – 2005. – **77**, №3. – С. 87–95.
  17. Губский Ю.И., Юрженко Н.Н., Шаповал Г.С. и др. Антирадикальная и антиокислительная активность некоторых мембранотропных препаратов синтетического и растительного происхождения // Укр. биохим. журн. – 1998. – **70**, №3. – С. 124–130.
  18. Давтян Т.К., Аванесян Л.А. О взаимоотношении иммунного и адаптивного ответов // Усп. совр. биологии. – 2001. – **121**, №3. – С. 275–286.
  19. Дубинина Е.Е. Антиоксидантная защита плазмы крови // Укр. биохим. журн. – 1992. – **64**, №2. – С. 3–15.
  20. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состоянии окислительного стресса // Вопр. мед. химии – 2001. – **47**, №6. – С. 561–581.
  21. Зенков Н.К., Меньшикова Е.Б., Вольский Н.Н., Козлов В.А. Внутриклеточный окислительный стресс и апоптоз // Усп. совр. биологии. – 1999. – **119**, №5. – С. 440–450.
  22. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. – М.: Знание, 2000. – 334 с.
  23. Зоров Д.Б., Банникова С.Ю., Белоусов В.В. и др. Друзья или враги. Активные формы кислорода и азота // Биохимия. – 2005. – **70**, вып. 2. – С. 265–272.
  24. Карнаух И.М., Урысон Б.В. Установки для измерения спонтанного сверхслабого свечения биологических и клинических объектов и вопросы метрологического обеспечения измерений. – В кн.: Биохимиллюминисценция / Под ред. А.И.Журавлева. – М.:Наука, 1983. – С. 118–134.
  25. Ковтун Г.А., Плужников В.А., Москаленко О.В., Цыганков С.А. Антирадикальная активность природного фенола – карвакрола в окисляющихся моделях липидов // Доп. НАН України. – 2002. – №10. – С. 138–140.
  26. Козаченко В.А., Фесенко Е.Е., Кочетков К.В., Чемерис Н.К. Облучение воды и водных растворов изменяет в них содержание в них свободного кислорода // Биофизика. – 1998. – **43**, вып.6. – С.981–988.
  27. Котеров А.Н., Никольский А.В. Молекулярные и клеточные механизмы адаптивного ответа у эукариот // Укр. биохим. журн. – 1999. – **71**, №3. – С. 13–25.
  28. Кричковская Л.В., Гуляева Н.В. Применение биологически активных веществ при адаптации к стрессовым воздействиям // Фізіол. актив. речовини. – 2000. – **30**, №2. – С. 72–74.
  29. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатиона // Успехи соврем. биологии. – 1990–**110**, №1. – С.20–31.
  30. Левин А.О., Мозговая И.А., Романкова М.П. и др. Активность ферментов антиоксидантной системы у больных ишемической болезнью сердца и конечностей на фоне УФ-облучения аутокрови. – В кн.: Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных. – Л.: Наука, 1985. – С. 57.
  31. Лонская И.А., Афанасьев В.Н., Печатников В.А. Индукция и подавление апоптоза в тимоцитах крысы ультрафиолетовым облучением // Биофизика. – 1997. – **42**, вып.3. – С. 680–686.
  32. Максютин Н.П., Пилипчук Л.Б. Рослинні антиоксиданти пектини в лікуванні і профілактиці променевого уражень і детоксикації організму // Фарм. журн. - 1996. - №2. - С.35–41.
  33. Меньшикова Е.Б., Зеньков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Успехи совр. биологии. – 1993. – **113**, №4. – С. 442–455.
  34. Осипов А.Н., Азизова О.А., Савов В.М. и др. Иницирование неферментативного перекисного окисления липидов в системе Fe<sup>2+</sup> – аскорбат-линоленат // Биофизика. - 1985. - **30**. - С.36–39.
  35. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А.. Активные формы кислорода и их роль в организме / Усп. биол. химии. – 1990. – **31**. – С.180–208.
  36. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса. – Новосибирск: Наука, 1983. – 232с.
  37. Поцелуева М.М., Пустовидко А.В., Евтодиенко Ю.В. и др. Образование реактивных форм кислорода в водных растворах под воздействием электромагнитного излучения КВЧ-диапазона // Докл. Академии наук. – 1998. – **359**, №3. – С. 415–418.
  38. Ротт Г.М., Сморгызанова О.А., Романцева В.А. Свойство радиации в малых дозах и низкоинтенсивного ионизирующего излучения вызывать индукцию металлотioneинов // Радиационная биология. – Радиоэкология. – 1995. – **35**, вып.4. – С. 507–511.
  39. Самойлова К.А. Действие УФ-излучения различных областей спектра на клетки нефонтосинтезирующих организмов. – В кн.: I Всесоюз. биофиз. съезд: Тезисы пленарных лекций и симпоз. докл. – М., 1982. – 124 с.

40. Самуилов В.Д., Олескин А.В., Лагунова Е.М. Программируемая клеточная смерть // Биохимия. – 2000. – **65**, вып. 8. – С. 1029–1046.
41. Спитковский Д.М., Ермаков А.В., Горин А.И. и др. Особенности внепланового синтеза ДНК и изменений структурных параметров ядер лимфоцитов человека после действия рентгеновского излучения в малых дозах и в сочетании с УФ-облучением // Рад. биология. Радиоэкология. – 1994. – **34**, вып.1. – С. 23–31.
42. Стальная И.Д. Метод определения диеновых коньюгаций ненасыщенных жирных кислот. – В кн.: Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н.Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 63–64.
43. Чанс Б. Методы исследования быстрых реакций. – М.: Мир, 1977. – С. 15–78.
44. Шабуневич Л.В., Александрова Л.А., Перельгин В.Г. Активность ферментов антиради-кальной защиты при УФ облучении крови. – В кн.: Механизмы влияния облученной ультрафиолетовыми лучами крови на организм человека и животных. – Л.: Наука, 1985. – С. 50.
45. Шаповал Г.С., Громова В.П., Мойбенко О.О. та ін. Особливості електрохімічних реакцій відновлення кисню в присутності аскорбінової кислоти та кверцетину // Доп. НАН України. – 1997. – №9. – С. 159–152.
46. Шаповал Г.С., Громова В.Ф., Аверков А.А Влияние органических растворителей на процесс восстановления кислорода в воде // Теор. и эксперим. химия. – 1998. – **34**, №1. – С. 11–13.
47. Шаповал Г.С., Громова В.П., Олофінська Н.М Дослідження механізму та ефективності дії антиоксидантів і радіопротекторів на початковій стадії “кисневого стресу”. – В кн.: Матеріали науково-практичної конференції “Мінімізація наслідків Чорнобильської катастрофи та особливості впливу всіх факторів на імунну систему постраждалого населення”. – К., 2001. – С. 26–35.
48. Шаповал Г.С., Громова В.П. Экспрес-метод оцінки ефективності антиоксидантів, радіопротекторів // Медичні проблеми аварії на ЧАЕС. Інформаційний лист. – К.: Укрмедпатентінформ, 2001. – №68, вип. 2. – 4с.
49. Шаповал Г.С., Громова В.Ф Миронюк И.Е. и др. Особенности окислительно-восстановительных реакций глутатиона // Доп. НАН України. – 2006. – №2. – С. 169–174.
50. Швецов Ю.П., Новиков В.В., Фесенко Е.Е. и др. Молекулярные механизмы биологического действия слабых магнитных полей // Биофизика. – 1998. – **43**, вып.6. – С. 977–980.
51. Aaseth J., Haugen M., Forre O. Rheumatoid arthritis and metal compounds - perspectives on the role of oxygen radical detoxification // Analyst. - 1998. - **123**, №1. - P.3–6.
52. Basaga H.S. Biochemical aspects of free radicals // Biochem. Cell Biol. – 1990. – **68**. – P. 989–998.
53. Bors W., Michel C., Saran M. Handbook of methods of oxygen radical research. – Boca Raton (Fla), 1986. – P.181–188.
54. Cotgreave I.A. Stress response // Toxicol. in vitro. – 1998. – **12**, №5. – P. 569–573.
55. Cottin Y., Doise J.M., Maupoil V. et al. Plasma iron status and lipid peroxidation following thrombolytic therapy for acute myocardial infarction // Fundam. and Clin. Pharmacol. - 1998. - **12**, №2. - P.236–241.
56. Courtois M., Maupoil V., Fantini E. et al. Correlation between direct ESR spectroscopic measurements and electrochemical and biochemical assessments of exogenous free radical injury in isolated rat cardiac myocytes // Free Rad. Biol. Med. – 1998. – **24**, №1. – P. 121–131.
57. Duthie, Kimber, Norval. The effect of ultraviolet radiate on the human immune system // Brit. J. Dermatol. – 1999. – **140**. – P. 995.
58. Dittmann K., Knaus-Dittmann D., Mayer C., Rodemann HP. Bowman-Birk proteinase inhibitor-mediated radioprotection against UV irradiation is TP53-dependent and associated with stimulation of nucleotide excision repair // Rad. and Environ. Biophys. – 2001. – **40**, № 2. – P.163–167.
59. Ehrenfreund P., Bernstein MP., Dworkin JP. et al. The photostability of amino acids in space // Astrophysical. J. – 2001. – **550**, № 1. – P. L95–L99.
60. Elliott S.J., Meszaros J.G., Schilling W.P. Effect of oxidant stress on calcium signaling in vascular endothelial cells // Free Radical. Biol. Med. – 1992. – **13**. – P. 635–650.
61. Enzinger C., Wirleitner B., Spottl N. et al. Reduced pteridine derivatives induce apoptosis in PC12 cells // Neurochemistry International. – 2002. – **41**. – P.71–78.
62. Fischbach C., Tessmar J., Lucke A. et al. Does UV irradiation affect polymer properties relevant to tissue engineering? // Surface Sci. – 2001. – **491**, №3. – P.333–345.
63. Fontecave M., Pierre J.L. Activation et toxicite de l'oxygene. Principes des therapeutiques antioxydantes // Bull. Soc. Chim. Fr. - 1991. - **128**. - P. 502–520.
64. Ghersiegea J.F., Maupoil V., Ray D., Rochette L. Electronic spin resonance detection of superoxide and hydroxyl radicals during the reductive metabolism of drugs by rat brain preparations and isolated cerebral microvessels // Free Rad. Biol. Med. - 1998. - **24**. - P. 1074–1081.
65. Gniadecki R., Thorn T., Vicanova J. et al. Role of mitochondria its ultraviolet-induced oxidative stress // J. Cel. Biochemistry. – 2000. – **80**, № 2. – P. 216–222.
66. Greenwald R.A. Handbook of Methods for Oxygen Radical Research. – CRC Press, Boca Raton, FL, 1985. – P. 150–169.
67. Gutteridge I.M.C. Antioxidant properties of the proteins cearuloplasmin, albumin and transferrin. A study of their activity in serum and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis // Biochim. Biophys. Acta. - 1986. - **869**, №2. - P. 119–127.
68. Halliwell B. Superoxide iron, vascular endothelium and reperfusion injury // Free Radic. Res. Comm. - 1989. - **5**, №6. - P. 315–318.
69. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. Free Radicals in Biology and Medicine. – New York: Oxford Univer. Press, 1999. – 3rd edn. – 272 p.

70. Horvath R., Kerekgyarto T., Csucs G. et al. The effect of UV irradiation on uracil thin layer measured by optical waveguide lightmode spectroscopy // *Biosensors and Bioelectronics*. – 2001. – **16**, № 1–2. – P. 17–21.
71. Kabuyama Y., Homma M.K., Sekimata M., Homma Y. Wavelength-specific activation of MAP kinase family proteins by monochromatic UV irradiation // *Photochem. and Photobiol.* – 2001. – **73**, № 2. – P. 147–152.
72. Korotkova E.I., Karbainov Y.A., Shevchuk A.V. Study of antioxidant properties by voltammetry // *J. Electroanal. Chem.* – 2002. – **518**, №1. – P. 56–60.
73. Labat-Robert J., Fourtanier A., Boyer-Lafargue B., Robert L. Age dependent increase of elastase type protease activity in mouse skin – Effect of UV – irradiation // *J. Photochem. and Photobiol. B-Biol.* – 2000. – **57**, № 2–3. – P. 113–118.
74. Li N., Ragheb K., Lawler G. et al. Dpi induces mitochondrial superoxide-mediated apoptosis // *Free Rad. Biol. and Med.* – 2003. – **34**, №4. – P. 465–477.
75. Matsuda N., Horikawa M., Wang LH. et al. Differential activation of ERK S and JNK in normal human fibroblast-like cells in response to UVC radiation under different oxygen tensions // *Photochem. and Photobiol.* – 2000. – **72**, № 3. – P. 334–339.
76. Oturan M.A., Pinson J. Reaction of inflammation inhibitors with chemically and electrochemically generated hydroxyl radicals // *J. Electroanal. Chem.* - 1992. - **334**. - P. 103–109.
77. Role of glutamine in health and disease / Mazzaferro E., Hackett T., Wingfield W., Ogilvie G., Fettman M. // *Comp. on Cont. Educ. for the Pract. Vater.* – 2000. – **22**, № 12. – P.1094.
78. Parthasarathy S., Kalyanaraman B. The synergistic interaction between the prooxidant phenoxyl radical  $\alpha$ -tocopherol and ascorbic acid in LDL oxidation // *Free Rad. Biol. and Med.* – 1990. – 9 – Suppl. 1. – P. 69.
79. Sahoo A., Chainy G.B.N. Alterations in the activities of cerebral antioxidant enzymes of rat related to aging // *Intern. J. Develop. Neurosci.* - 1997. - **15**, №8. -P. 939–948.
80. San Y. Free radicals, antioxidant enzymes, and carcinogenesis // *Free radical Biol. Med.* – 1990. – **8**. – P.583–59.
81. Saver D.T., Nanni E.J. (Jr.) Oxygen and oxiradicals in chemistry and biology / Ed. M.A.J.Rogers, E.L.Powers. – N.Y.: Acad. Press, 1981. – P.15–40.
82. Sawaga M., Sester U., Carlson J.C. Superoxide radical formation and associated biochemical alteration in the plasma membrane of brain, heart, and liver during the lifetime of the rat // *J. Cell Biochem.* – 1992. – **48**. – P. 296–304.
83. Sawyer D.T., Nanni E.J. (Jr) Oxygen and oxiradicals in chemistry and biology / Eds. M.A.J.Rogers, E.L.Powers. – N.Y.: Acad. press, 1981. – P. 15–40.
84. Schrader Michael, Dariush Fahimi H. Peroxisomes and oxidative stress // *Biochim. et Biophys. Acta* {BBA} – *Molec.r Cell Res.* – 2006. – **1763**, 12, December. – P. 1755–1766.
85. Shapoval G.S., Luik A.I., Piven V.I. Mechanism of inhibiting effect of biologically active compounds on the active forms of oxygen reduction // *Укр.біохім.журн.* – 1995. – №2. – С. 86–90.
86. Shapoval G.S., Gromova V.P., Tarasuk O.P., Myronyuk I. Ye. Electrochemical Modeling of Interaction between the Products of Oxygen Reduction and Some Proteinogenic Amino Acids // *Electrochemistry: From Nanostructures to Power Plants. 55th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry. Book of Abstracts I.* – Thessaloniki, 2004. – P. 175.
87. Shaw J.P., Malley J.P., Willoughby S.A. Effects of UV irradiation on organic matter // *J. Amer. Water Works Association.* – 2000. – **92**, № 4. – P.157–167.
88. Simic M.G., Taylor K.A., Ward J.F. et al. Oxygen Radicals in Biology and Medicine. – New York: Plenum, 1988. – 280 p.
89. Singh U., Ishwarlal. Oxidative stress and atherosclerosis // *Pathophysiology.* – 2006. – **13**, №3, August. – P. 129–142.
90. Slater T.F. Recent advances in biochemical pathology: Toxic liver injury. – L.: Pion Press, 1976. – 283 p.
91. Suzuki Y.J., Ford G.D. Mathematical model supporting the superoxide theory of oxygen toxicity // *Free Rad. Biol. Med.* – 1994. – **16**. – P. 63–72.
92. Wei Y.H., Pang C.Y., Lee H.C., Lu C.Y. Roles of mitochondrial DNA and oxidative damage in human aging // *Curr. Sci.* - 1998. - **74**, №10. - P.887–893.
93. Weiss J., Kumar K. Antioxidant mechanisms in radiation injury and radioprotection. // *Cellular antioxidant defense mechanisms.* – Boca Raton, FL: CRS Press, 1988. – P. 163–252.
94. Westholt R., Kestler P., Sichen O., Westheide W. Effects of long-term ultraviolet radiation: the white form of *Metridium senile* (Anthozoa: Actiniaria) as a potential biological indicator for ultraviolet // *Helgoland Marine Res.* – 2001. – **55**, № 1. – P. 87–93.
95. Wyngaarden K.E., van. Pauwels E.K. Hormesis: are low doses of ionizing radiation harmful or beneficial // *Eur. J. Nucl. Med.* – 1995. – **22**. – P. 481–486.
96. Yamazaki I., Piette H.L. EPR spin-trapping study on the oxidizing species formed in the reaction of ferrous ion with hydrogen peroxide // *J. Amer. Chem. Soc.* - 1991. - **113**, №20. - P. 7588–7593.
97. Yawalkar N., MC. Aebischer MC., R. Hunger R. et al. Effects of UV irradiation with one minimal erythema dose on human afferent skin lymph in vivo // *Exp. Dermatol.* – 1998. – **7**, №6. – P.362–368.
98. Zhu SH., Fang CX., Zhu SQ. et al. Inhibitory effects of *Gynostemma pentaphyllum* on the UV induction of bacteriophage lambda in lysogenic *Escherichia coli* // *Cur. Microbiol.* – 2001. – **43**, № 4. – P.299–301.

Ін-т біоорган. хімії та нафтохімії НАН України, Київ  
E-mail: users@bpci.kiev.ua

Матеріал надійшов до  
редакції 06.09.2007