

# Фотосенсибилизированное псораленом повреждение мембран эритроцитов. Влияние двухвалентных катионов и интенсивности УФА-излучения (обзор литературы)

Е.П.Лысенко, А.Я.Потапенко

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра физики и математики педиатрического факультета, Москва (и.о. зав. кафедрой — проф. А.Г.Максина)

Совместное воздействие псораленов и УФА-облучения (320–400 нм) используется для лечения кожных и аутоиммунных заболеваний (ПУВА-терапия). Один из возможных механизмов терапевтического, а также побочных фототоксических эффектов ПУВА-терапии может осуществляться через стадию образования продуктов фотоокисления псоралена (ФОП-продуктов). В статье обсуждаются механизмы образования двух типов ФОП-продуктов. ФОП<sub>1</sub>-продукты образуются в растворах псоралена с низкой концентрацией молекул и/или при облучении растворов УФА-светом низкой интенсивности. Они обладают иммуносупрессорной активностью и обнаруживаются методом ЭПР с использованием спиновых ловушек. ФОП<sub>2</sub>-продукты образуются при высокой концентрации молекул псоралена и/или при высокой интенсивности УФА-облучения растворов псоралена. Эти фотопродукты обладают гемолитической активностью и обнаруживаются методом Fe(II)-индуцированной хемилюминесценции. Обсуждается влияние ионов Fe(II) на мембранотоксические эффекты, индуцированные ФОП-продуктами.

*Ключевые слова:* псорален, интенсивность УФА-излучения, фотоокисление, гемолиз, Fe(II)-ионы, спиновые ловушки, хемилюминесценция

## Psoralen Photosensitized Damage of Erythrocyte Membranes. Effects of Bivalent Cations and Fluence Rate of UVA-Irradiation: A Literature Review

E.P.Lysenko, A.Ya.Potapenko

Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Physics and Mathematics of Pediatric Faculty, Moscow (Acting Head of the Department — Prof. A.G.Maksina)

Psoralens combined with UVA-irradiation (320–400 nm) are used for the treatment of skin and autoimmune diseases (PUVA-therapy). One possible mechanism of therapeutic and side phototoxic effects of PUVA-therapy can be realized through the stage of formation of psoralen photooxidation products (POP-products). In the present paper, the mechanisms of formation of two types of POP-products are discussed. POP<sub>1</sub>-products are predominantly formed in solutions at low psoralen concentration and/or under low fluence rate of UVA-irradiation. These POP<sub>1</sub>-products possess immunosuppressive activity and are detected by spin trap EPR method. POP<sub>2</sub>-products are formed under high fluence rate of UVA-irradiation and/or at high psoralen concentration. They possess hemolytic activity and are detected by Fe(II)-induced chemiluminescence. The influence of Fe(II)-ions on POP-induced membranotoxic effects is discussed.

*Key words:* psoralen, fluence rate of UVA-irradiation, photooxidation, hemolysis, Fe(II)-ions, spin traps, chemiluminescence

Совместное воздействие псораленов (фурокумаринов) и УФА-облучения (320–400 нм) на кожу (ПУВА-терапия) или кровь (фотоферез) используется для лечения псориаза, Т-клеточной лимфомы, атопической экземы, ви-

тиги и других кожных и аутоиммунных заболеваний [1, 2]. Терапевтический эффект ПУВА-терапии и фотофереза, предполагается, связан с их иммуносупрессорным воздействием [1]. ПУВА-воздействие сопровождается побочными токсическими эффектами (эритемой, эдемой и др.). Как терапевтические, так и побочные эффекты являются следствием фотохимических реакций псораленов. Эти реакции можно разделить на четыре типа [3, 4]. Тип I включает перенос электрона между возбужденной молекулой псоралена и молекулой субстрата с образованием свободных радикалов. Тип II осуществляется по механизму переноса энергии на молекулу O<sub>2</sub> с образованием синглетного кислорода. Реакции типа III типичны для псораленов и осуществляются

### Для корреспонденции:

Лысенко Евгений Петрович, кандидат биологических наук, доцент кафедры физики и математики педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-6676  
E-mail: elysenko1@mail.ru

Статья поступила 06.06.2014, принята к печати 17.09.2014

через не нуждающееся в кислороде фотоприсоединение к биосубстратам (ДНК, ненасыщенным жирным кислотам). В реакциях типа IV псоралены сначала фотоокисляются в отсутствие субстрата с образованием относительно стабильных продуктов фотоокисления псоралена (ФОП-продуктов), которые затем вступают в реакции с молекулами субстратов. Реакции типов I–III могут осуществляться только при облучении субстрата в присутствии сенсибилизатора. Реакции типа IV могут быть реализованы в экспериментах, когда предоблученный фотосенсибилизатор добавляется к субстрату в темноте [3]. Фотохимические реакции типа IV представляют особый интерес, так как было установлено, что ФОП-продукты обладают значительной биологической активностью. УФА-облучение псораленов на воздухе приводит к образованию большого количества фотопродуктов [5–8], но только немногие из них идентифицированы, и установлена их биологическая активность. Недавно обнаружена фотоиндуцированная агрегация ФОП-продуктов [9]. С помощью метода резонансного светорассеяния было доказано возникновение агрегатов фотопродуктов после УФА-облучения псоралена и высказано предположение, что фотоиндуцированные агрегаты могут обладать гемолитической активностью [9]. Некоторые биологически активные фотопродукты псоралена были химически синтезированы [10, 11]. Выделение и идентификация отдельных ФОП-продуктов является сложной задачей из-за их лабильности в некоторых растворителях, термолабильности или чрезвычайно низких квантовых выходов фотохимических реакций, в которых они образуются. Некоторые фотопродукты теряются при попытке их выделить и поэтому не попадают в поле зрения исследователей. Таким образом, часто остается возможным лишь исследовать биологические эффекты сложной смеси фотопродуктов псораленов.

Было обнаружено, что ФОП-продукты вызывают окисление ненасыщенных липидов [12, 13], ковалентно связываются с белками [14], вызывают превращение гемопroteинов [15], инактивируют ферменты [16], повреждают плазматические мембраны эритроцитов [17–19] и лейкоцитов [20], влияют на продукцию супероксидных радикалов фагоцитами [20], ингибируют хемотактическую активность полиморфно-ядерных нейтрофилов [21], индуцируют мутагенные и летальные эффекты микроорганизмов [10, 11], модулируют Т-клеточную иммунную систему у мышей [22, 23], обладают апоптогенной активностью [24] и вызывают терапевтические эффекты у пациентов с кожными заболеваниями [25]. Эти данные свидетельствуют, что реакции типа IV могут играть важную роль в ПУВА-терапии, но относительный вклад ФОП-продуктов в индукцию фотобиологических эффектов псораленов недостаточно изучен. Некоторые выводы об участии реакций типа IV в индукции биологических эффектов ПУВА-воздействия могут быть сделаны с использованием кинетического анализа образования ФОП-продуктов в растворах и в биологических системах. Полезным приближением является исследование зависимости выхода ФОП-продуктов от интенсивности УФА-излучения, концентрации фотосенсибилизатора и т.д. Дополнительная информация может быть получена при исследовании влияния ингибиторов и активаторов биологических эффектов, индуцированных ФОП-продуктами.

Удобной и простой моделью для оценки способности различных химических соединений и физических факторов повреждать биологические мембраны является индуцированный ими гемолиз эритроцитов. Эритроциты — безъядерные клетки, поэтому исключается воздействие физико-химическими агентами на ядра клеток, исследуются лишь их мембранотропные эффекты. В данной статье систематизированы сведения о регуляторных эффектах двухвалентных катионов Fe(II), Ca<sup>2+</sup> и интенсивности УФА-облучения на фотосенсибилизированный псораленом гемолиз, который может осуществляться через стадию образования ФОП-продуктов.

### Кинетические особенности фотоокисления псоралена в растворах

Добавление ионов Fe(II) к свежеприготовленному раствору фотоокисленного псоралена приводит к потере им биологической активности. Процесс разрушения ФОП-продуктов ионами Fe(II) сопровождается образованием свободных радикалов и молекул в электронно-возбужденном состоянии. Свободные радикалы можно обнаружить методом ЭПР с использованием спиновой ловушки С-фенил-N-трет-бутил-нитрона (ФБН), в то время как молекулы в электронно-возбужденном состоянии могут быть зарегистрированы методом хемилюминесценции (ХЛ) [26, 27]. Из рис. 1 видно, что спиновые аддукты (СА) эффективнее генерируются при низких концентрациях псоралена (кривая 1); назовем участвующие в этом процессе фотопродукты ФОП<sub>1</sub>. Хемилюминесцирующие продукты, наоборот, эффективнее генерируются в концентрированных растворах псоралена (кривая 2); назовем участвующие в этом процессе фотопродукты ФОП<sub>2</sub>.

Спиновые аддукты образовывались в реакциях ФОП с ионами Fe(II) в присутствии ФБН. Участие этанола было

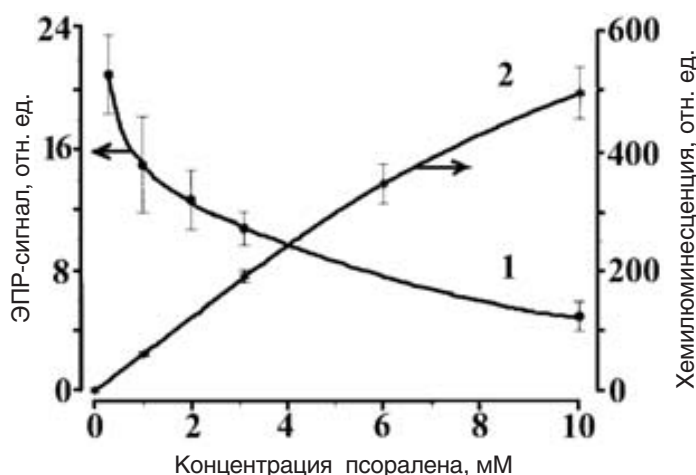
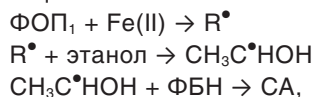


Рис. 1. Зависимость количества ФОП-продуктов, образующихся при УФА-облучении (144 кДж/м<sup>2</sup>, 366 нм) этанольного раствора псоралена, от концентрации псоралена в растворе. 1 — ФОП<sub>1</sub>-продукты, регистрируемые методом ЭПР с использованием спиновой ловушки ФБН; 2 — ФОП<sub>2</sub>-продукты, регистрируемые методом Fe(II)-индуцированной ХЛ. Условия экспериментов приведены в работах [26, 27].

обязательным для образования СА. Анализ ЭПР-спектра показал, что он принадлежит спиновым аддуктам гидроксиэтильных радикалов и ФБН [26, 27], т.е. ФБН не ловит первичные свободные радикалы, образующиеся при взаимодействии ФОП<sub>1</sub> с ионами Fe(II), но реагирует со вторичными радикалами, образующимися при взаимодействии первичных радикалов (R<sup>•</sup>) с этанолом в следующих реакциях:

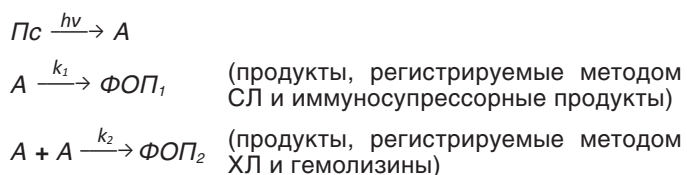


где CH<sub>3</sub>C<sup>•</sup>НОН — гидроксиэтильный радикал. Так как ФБН не ловит радикалы R<sup>•</sup>, то невозможно с помощью этой ловушки получить информацию о природе первичных радикалов, образующихся из ФОП<sub>1</sub>-продуктов. Тем не менее в присутствии этанола можно оценить концентрацию ФОП<sub>1</sub>-продуктов, приводящих к появлению первичных радикалов.

Из рис. 1 можно видеть, что концентрационные зависимости выхода ФОП<sub>1</sub>-продуктов, регистрируемых методом спиновых ловушек (СЛ), и ФОП<sub>2</sub>-продуктов, регистрируемых методом ХЛ, — противоположные, т.е. эти методы позволяют оценивать различные типы ФОП-продуктов.

Ранее было показано, что ФОП-продукты, индуцирующие гемолиз эритроцитов [28], так же как и ФОП-продукты, обладающие иммуносупрессорной активностью [22], могут быть разрушены ионами Fe(II). Зависимость образования ФОП-гемолизина от концентрации псоралена в растворе во время УФА-облучения подобна той, которая представлена кривой 2 на рис. 1, в то время как концентрационная зависимость образования ФОП-продуктов – иммуносупрессоров подобна кривой 1 [23]. Известно также, что ФОП-иммуносупрессоры более эффективно образуются при малой интенсивности УФА-облучения, в то время как ФОП-гемолизины — при высокой интенсивности [23]. Это позволяет заключить, что процессы образования мембранотоксических ФОП-продуктов и ФОП-иммуносупрессоров являются конкурентными, т.е. экспериментальные условия, благоприятствующие образованию одного типа фотопродуктов, способствуют уменьшению выхода другого типа фотопродуктов. Аналогичный вывод можно сделать о ФОП<sub>1</sub>-продуктах, регистрируемых методом СЛ, и ФОП<sub>2</sub>-продуктах, регистрируемых методом ХЛ.

Изложенные выше экспериментальные результаты можно объяснить следующей кинетической схемой:



На этой схеме Пс — молекула псоралена; А — лабильный промежуточный фотопродукт псоралена, который является предшественником относительно стабильных конечных продуктов ФОП<sub>1</sub> и ФОП<sub>2</sub>; k<sub>1</sub> и k<sub>2</sub> — константы скоростей реакций. ФОП<sub>1</sub> является продуктом дальнейших превращений продукта А, в то время как ФОП<sub>2</sub> является продуктом

рекомбинации двух лабильных молекул-интермедиатов А. Можно видеть, что в разбавленных растворах псоралена или при низких интенсивностях УФА-излучения концентрация продукта А будет низкой, что способствует образованию ФОП<sub>1</sub>-продукта, но не ФОП<sub>2</sub>. Таким образом, предложенная схема хорошо описывает как влияние концентрации псоралена во время облучения, так и интенсивности УФА-излучения на выход ФОП-продуктов. Сильная зависимость выхода фотопродуктов от интенсивности УФА-излучения является важной особенностью фотоокислительных реакций псоралена. Аналогичная зависимость от интенсивности УФА-излучения и концентрации псоралена при облучении характерна для гемолиза, фотосенсибилизированного псораленом, что может свидетельствовать об участии ФОП-продуктов в фотосенсибилизированном псораленом повреждении биологических мембран.

### Активация высокоинтенсивного ПУВА-гемолиза ионами Fe(II)

Ранее было показано, что ПУВА-гемолиз, индуцированный УФА-излучением с интенсивностью, большей чем 120 Вт/м<sup>2</sup> (высокоинтенсивный (ВИ) ПУВА-гемолиз), обладает некоторыми специфическими особенностями: при дозах, не намного превышающих пороговое значение, лишь часть клеток в суспензии подвергается лизису, т.е. гемолиз — незавершенный [29]. Зависимость доли лизированных клеток от дозы облучения (амплитуда гемолиза) имеет сигмоидную форму. Возрастание дозы облучения приводит к завершённому (100%) гемолизу. Завершённый гемолиз характеризуется скоростью гемолиза (v), которая определяется как величина, обратная времени, за которое лизируются 50% клеток в суспензии (v = 1/t<sub>50</sub>). Зависимость скорости гемолиза от дозы облучения — противоположная таковой для амплитуды гемолиза: скорость завершённого гемолиза уменьшается с ростом дозы облучения.

Обнаружено, что добавление ионов Fe(II) к суспензии эритроцитов значительно усиливает ВИ ПУВА-индуцированное повреждение эритроцитов [30]. На рис. 2А представлены кривые незавершённого ВИ ПУВА-гемолиза при добавлении ионов Fe(II) в суспензию после УФА-облучения (а) и без добавления ионов Fe(II) (б).

Необходимо выделить две особенности: (1) пороговая доза облучения в присутствии ионов Fe(II) (10<sup>-4</sup> М) существенно ниже (1,5 Дж/м<sup>2</sup>), чем без ионов Fe(II) (13,9 кДж/м<sup>2</sup>); (2) лизис эритроцитов в присутствии ионов Fe(II) развивался более быстро, чем без добавления ионов Fe(II). В присутствии ионов Fe(II) кривые достигали плато приблизительно за 10 мин, в то время как без ионов Fe(II) — за 1–2 ч.

На рис. 2Б суммированы данные о влиянии ионов Fe(II) на ВИ ПУВА-гемолиз. Добавление ионов Fe(II) приводит к сдвигу дозовой зависимости амплитуды гемолиза в область низких доз (кривая 1) в сравнении с контролем без ионов Fe(II) (кривая 2). Скорость гемолиза в присутствии ионов Fe(II) существенно выше, чем в отсутствие активатора. Дозовая зависимость скорости Fe(II)-активированного гемолиза (3) качественно такая

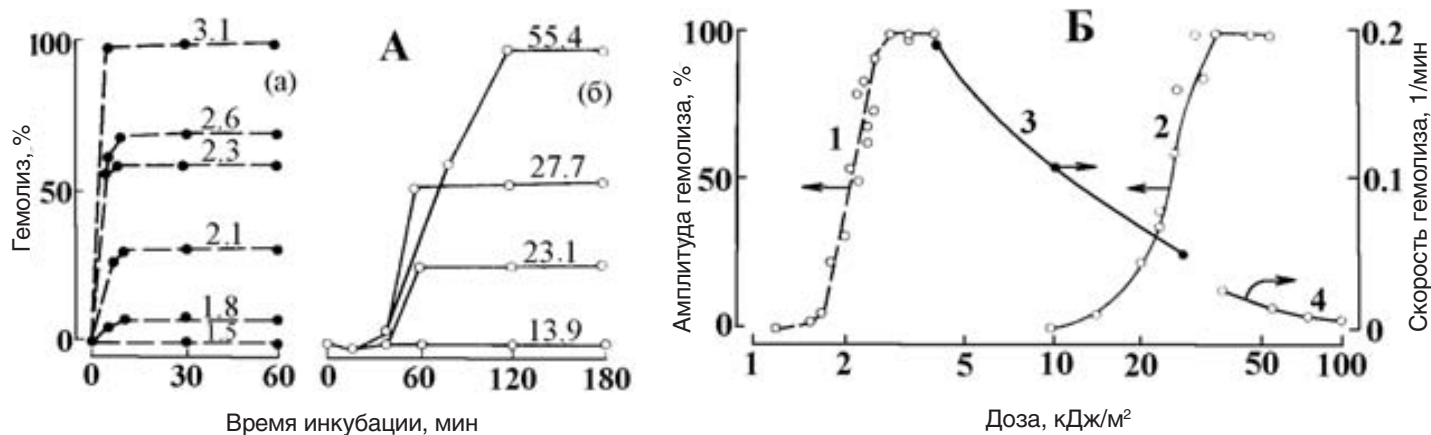


Рис. 2. (А) Влияние ионов Fe(II) на незавершенный ВИ (154 Вт/м<sup>2</sup>) ПУВА-гемолиз. (а) — ионы Fe(II) (10<sup>-4</sup> М) добавлялись сразу после облучения суспензии; (б) — без ионов Fe(II). Цифры над кривыми указывают дозу облучения раствора псоралена в кДж/м<sup>2</sup>. (Б) Дозовая зависимость амплитуды (1, 2) и скорости (3, 4) ВИ (154 Вт/м<sup>2</sup>) ПУВА-гемолиза. Кривые 2, 4 представляют эксперименты без ионов Fe(II), а кривые 1, 3 — с добавлением ионов Fe(II) (10<sup>-4</sup> М) сразу после облучения. Условия экспериментов приведены в работах [29, 30].

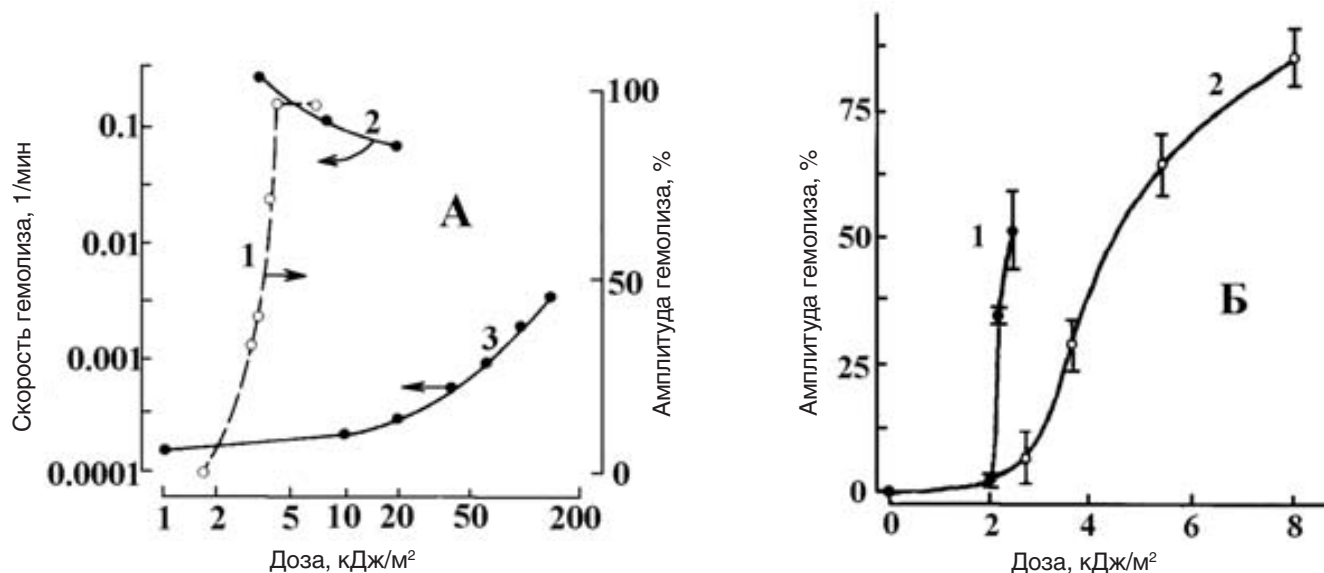


Рис. 3. (А) Активация НИ (24 Вт/м<sup>2</sup>) ПУВА-гемолиза ионами Fe(II). Кривые 1 и 2 представляют дозовые зависимости амплитуды (1) и скорости (2) гемолиза в присутствии ионов Fe(II) (10<sup>-4</sup> М), добавленных в суспензию сразу после облучения. Кривая 3 — дозовая зависимость скорости гемолиза без ионов Fe(II). Условия эксперимента даны в работах [29, 30]. Представлены результаты одного типичного эксперимента. (Б) Влияние ионов Fe(II) на амплитуду ФОП-гемолиза. Раствор ФОП смешивали с суспензией эритроцитов (5×10<sup>7</sup> клеток/мл) без последующего добавления ионов Fe(II) (кривая 2) или с последующим добавлением ионов Fe(II) (кривая 1). Приведены средние значения трех независимых экспериментов. Условия экспериментов приведены в работе [28].

же, как и без добавления активатора (4). С ростом дозы облучения уменьшается скорость гемолиза. Добавление ионов Fe(III) (10<sup>-4</sup> М) к суспензии эритроцитов не приводит к активации гемолиза (данные не представлены), это свидетельствует о том, что ионы Fe(II) играют роль восстанавливающих агентов.

#### Активация низкоинтенсивного ПУВА-гемолиза ионами Fe(II)

Механизм низкоинтенсивного (НИ) ПУВА-гемолиза в отсутствие ионов Fe(II) существенно отличается от механизма ВИ ПУВА-гемолиза. Закономерности, характерные для НИ ПУВА-гемолиза, проявляются при ин-

тенсивностях УФА-излучения, меньших чем 40 Вт/м<sup>2</sup>. При НИ УФА-облучении пороговая доза отсутствует и скорость гемолиза пропорциональна квадрату дозы облучения [29]. Обнаружено, что ионы Fe(II) (10<sup>-4</sup> М) активируют НИ ПУВА-гемолиз, как и ВИ ПУВА-гемолиз [30]. На рис. 3А кривая 3 представляет дозовую зависимость скорости НИ (24 Вт/м<sup>2</sup>) ПУВА-гемолиза [29]. Добавление ионов Fe(II) существенно изменяет механизм гемолиза, он становится подобным ВИ ПУВА-гемолизу. Появляется пороговая доза, равная приблизительно 2 кДж/м<sup>2</sup>. В интервале доз между 2 и 4 кДж/м<sup>2</sup> гемолиз — незавершенный (кривая 1). При дозе 4 кДж/м<sup>2</sup> добавление ионов Fe(II) приводит к значительному (в 800 раз) увеличению скорости НИ ПУВА-гемолиза, но при более высоких дозах

скорость Fe(II)-активированного гемолиза уменьшается с ростом дозы (кривая 2). Качественно эффект активации НИ ПУВА-гемолиза ионами Fe(II) хорошо воспроизводится в разных опытах, но количественно может варьировать для разных проб эритроцитов.

Данные, представленные кривыми 1 и 2 на рис. 3А, были получены с использованием разных суспензий эритроцитов в различных экспериментах. Приведены типичные кривые. Эффект активации гемолиза уменьшается с уменьшением концентрации ионов Fe(II) и исчезает при концентрации  $10^{-6}$  М. Добавление ионов Fe(III) к эритроцитам не приводит к активации гемолиза (данные не приведены).

### Активация ФОП-гемолиза ионами Fe(II)

ПУВА-гемолиз может осуществляться через стадию образования ФОП-продуктов [3, 31], поэтому исследовались эффекты активации ФОП-гемолиза ионами Fe(II) [28]. Обнаружено, что эти эффекты зависят от способа добавления Fe(II). На рис. 3Б приведены результаты экспериментов, в которых ФОП-продукты смешивали с суспензией эритроцитов и затем добавляли Fe(II). Кривая 2 на рис. 3Б иллюстрирует зависимость амплитуды ФОП-гемолиза от дозы облучения псоралена в отсутствие ионов Fe(II). Если после смешивания ФОП-продуктов с суспензией эритроцитов добавлялись ионы Fe(II), амплитудная кривая сдвигалась в область низких доз облучения псоралена (рис. 3Б, кривая 1), при этом ионы Fe(II) активировали ФОП-гемолиз в 2 раза. Эффект активации ФОП-индуцированного гемолиза двухвалентными ионами железа наблюдался также в случае завершеного гемолиза. Скорость Fe(II)-активированного завершеного ФОП-гемолиза увеличивалась в 2–4 раза в сравнении с контролем — без ионов Fe(II). Добавление ионов Fe(III) в концентрации  $10^{-4}$  М не влияло на ФОП-индуцированный гемолиз [28].

В дополнительных экспериментах ФОП-продукты сначала инкубировали с ионами Fe(II) в течение различного времени, затем оставшиеся свободные ионы Fe(II) удаляли из раствора десферриоксиамином (хелатором ионов железа), и только после этого ФОП-продукты добавляли к суспензии эритроцитов. Было обнаружено, что когда ФОП-продукты смешивали с эритроцитами сразу после их взаимодействия с Fe(II) и удаления ионов Fe(II) десферриоксиамином, гемолиз активировался в несколько раз. Это свидетельствует об образовании более сильных гемолизинов в реакции ФОП-продуктов с ионами Fe(II). Однако в процессе прединкубации ФОП-продуктов с ионами Fe(II) их активность постепенно уменьшалась и после 20 мин инкубации становилась ниже, чем у ФОП-продуктов, которые не инкубировали с Fe(II). После 1 ч прединкубации ФОП-продуктов с Fe(II) их гемолитическая активность полностью исчезала. Таким образом, с одной стороны, взаимодействуя с ФОП-продуктами, ионы Fe(II) приводят к образованию более сильного гемолизина. С другой стороны, реагируя с новым образовавшимся гемолизином, ионы Fe(II) уменьшают его гемолитическую активность [28].

Возможны два механизма активации гемолиза ионами Fe(II): (1) при деструкции ФОП-продуктов ионами Fe(II) образуются новые более эффективные гемолизины; (2) ионы Fe(II) приводят к образованию скрытых дефектов в эритроцитах, которые не увеличивают скорость спонтанного гемолиза (в отсутствие ФОП), но делают эритроциты более чувствительными к ФОП-гемолизинам [28].

### Влияние хелатора двухвалентных катионов ЭДТА на ПУВА- и ФОП-гемолиз

Другим подходом к исследованию биологической активности ФОП-продуктов и роли двухвалентных катионов в модуляции фотосенсибилизированного псораленом повреждения биологических мембран может быть использование хелаторов катионов [32]. Добавление хелатора двухвалентных катионов этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в суспензию эритроцитов приводило к уменьшению скорости низкоинтенсивного ( $24 \text{ Вт/м}^2$ ) ПУВА-гемолиза как в опыте, так и в контроле, причем эффекты ингибирования были приблизительно одинаковыми [32]. Это свидетельствует о том, что действие ЭДТА проявлялось не на фотохимической стадии, и молекулы ЭДТА, видимо, не взаимодействовали с ФОП-продуктами, образующимися в мембранах эритроцитов при низкой интенсивности УФА-излучения. Возможно, уменьшение скорости гемолиза в опыте и в контроле является результатом связывания эндогенных ионов Fe(II) молекулами ЭДТА. Нельзя исключить механического закрытия каналов проницаемости в мембранах эритроцитов молекулами ЭДТА.

Во всех случаях высокоинтенсивного ПУВА-гемолиза и ФОП-гемолиза проявлялся обратный эффект. Добавление ЭДТА к суспензии эритроцитов приводило к увеличению скорости гемолиза. Введение ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в суспензию, наоборот, приводило к значительному ингибированию ВИ ПУВА-гемолиза [33], что может свидетельствовать, по-видимому, о связывании молекулами ЭДТА ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в мембранах.

Механизмы НИ и ВИ ПУВА-гемолиза существенно различаются [29]. ФОП-гемолиз подобен ВИ ПУВА-гемолизу [3, 29], что свидетельствует о возможности индукции ВИ ПУВА-гемолиза через стадию образования ВИ ФОП-продуктов. Предполагается, что в индукции как ВИ ПУВА-гемолиза, так и ФОП-гемолиза важная роль принадлежит латеральной диффузии молекул фосфолипидов в мембранах [33].

Связывание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  хелаторами ЭДТА или ЭГТА в клеточных мембранах приводит к значительным изменениям структуры и функций мембран. Например, обнаружено, что хелаторы вызывают необратимую диссоциацию гликопротеинового комплекса GPIIb-IIIb в мембранах тромбоцитов человека [34] и изменяют взаимодействие рецепторов трансферрина с цитоскелетом в ретикулоцитах [35]. Эти изменения физических свойств мембран могут влиять на взаимодействие ВИ ФОП-продуктов с мембранами. Увеличение скорости латеральной диффузии молекул фосфолипидов в мембранах эритроцитов после связывания ионов  $\text{Ca}^{2+}$  может ускорять сборку каналов проницаемости и, следовательно, активировать

ВИ ПУВА- и ФОРП-гемолиз. По-видимому, эти эффекты могут отвечать за активацию ВИ ПУВА- и ФОРП-гемолиза молекулами ЭДТА.

### Заключение

Объектом ПУВА-терапии является кожа человека. Глубина проникновения УФА-излучения в кожу мала, поэтому эритроциты не являются мишенью при ПУВА-воздействии, но они могут использоваться в качестве модели при исследовании фотосенсибилизированного псораленом повреждения клеточных мембран. Эта модель доступна, процесс ПУВА-индуцированного повреждения мембран можно легко регистрировать по гемолизу, осуществляя *in vitro* такие регулирующие воздействия на клетки в суспензии, которые не возможны на коже. Например, для поиска ингибиторов и активаторов фотосенсибилизированного повреждения клеточных мембран можно добавлять в суспензию клеток ионы  $Fe^{2+}$  или  $Ca^{2+}$  или, наоборот, удалять их хелаторами. Исследования можно производить в широком диапазоне интенсивностей и доз УФА-излучения, облучая клетки в присутствии псораленов (осуществляя ПУВА-воздействие) или добавляя в суспензию предварительно полученные продукты фотоокисления псоралена (ФОРП-продукты). Выявленные на эритроцитах закономерности фотосенсибилизированного повреждения клеточных мембран можно затем проверить на более сложном объекте, таком как кожа.

### Литература

1. Oliven A., Shechter Y. Extracorporeal photopheresis: a review // *Blood Rev.* 2001. V.15 (2). P.103–108.
2. Honigsman H. Mechanisms of phototherapy and photochemotherapy for photodermatoses // *Dermatol Ther.* 2003. V.16 (1). P.23–27.
3. Potapenko A.Ya. Mechanisms of photodynamic effects of furocoumarins // *J Photochem Photobiol B.* 1991. V.9 (1). P.1–33.
4. Dall'Acqua F., Vedaldi D., Caffieri S. Principles of psoralen photosensitization // *The Fundamental Basis of Phototherapy* / Ed. by H.Honigsman, G.Jori, A.R.Young. Milano: OEMF spa, 1996. P.1–16.
5. Wasserman H.H., Berdahl D.R. The photooxidation of 8-methoxypsoralen // *Photochem Photobiol.* 1982. V.35. P.565–567.
6. Logani M.K., Austin W.A., Shah B., Davis R.E. Photooxidation of 8-methoxypsoralen with singlet oxygen // *Photochem Photobiol.* 1982. V.35. P.569–573.
7. Marley K.A., Larson R.A., Davenport R. Redox mechanisms of furocoumarin phototoxicity // *The Spectrum.* 1995. V.8. P.9–13.
8. Caffieri S. Furocoumarin photolysis: chemical and biological aspects // *Photochem Photobiol Sci.* 2002. V.1 (3). P.149–157.
9. Пятницкий И.Я., Власова Н.В. Исследование агрегации продуктов фотоокисления псоралена методом резонансного светорассеяния // *Вестн. РГМУ.* 2011. №1. С.69–73.
10. Adam W., Hauer H., Mosandl T. et al. Furocoumarin-, naphtofuran- and furoquinoline-annulated 1, 2-dioxetanes: synthesis, thermolysis and mutagenicity // *Liebigs Ann Chem.* 1990. P.1227–1236.
11. Adam W., Mosandl T., Ramaiah D., Saha-Moller C.D. Furocoumarin dioxetanes and hydroperoxides as novel photobiological DNA-damaging agents // *Quimica Nova.* 1993. V.16. P.316–320.
12. Potapenko A.Ya., Moshnin M.V., Krasnovsky A.A., Sukhorukov V.L. Dark oxidation of unsaturated lipids by the photooxidized 8-methoxypsoralen // *Z Naturforsch.* 1982. V.37. P.70–72.
13. Potapenko A.Ya., Sukhorukov V.L. Photooxidative reactions of psoralens // *Stud Biophys.* 1984. V.101. P.89–98.
14. Yoshikawa K., Mori N., Sakakibara S. et al. Photo-conjugation of 8-methoxypsoralen with proteins // *Photochem Photobiol.* 1979. V.29. P.1127–1133.
15. Lysenko E.P., Melnikova V.O., Andina E.S. et al. Effects of glutathione peroxidase and catalase on hemolysis and methemoglobin modification induced by photooxidized psoralen // *J Photochem Photobiol B.* 2000. V.56. P.187–195.
16. Ali R., Agarwala S.C. In vitro and in vivo effect of normal and irradiated psoralen on glucose oxidation of brain and liver // *Enzyme.* 1974. V.18. P.321–326.
17. Potapenko A.Ya., Bezdtnaya L.N., Lysenko E.P. et al. Mechanisms of furocoumarin-sensitized damage to biological membranes // *Stud Biophys.* 1986. V.114. P.159–170.
18. Бездетная Л.Н., Потапенко А.Я., Перхова О.Ю. и др. Фотосенсибилизированное псораленом повреждение мембран эритроцитов: два механизма // *Биол. мембраны.* 1987. №4. С.270–279.
19. Potapenko A.Ya., Kyagova A.A., Andina E.S. et al. Photohemolysis sensitized by the furocoumarin imperatorin and its oxyfunctionalized derivatives // *Photochem Photobiol.* 1999. V.69. P.410–420.
20. Kyagova A.A., Korkina L.G., Snigireva T.V. et al. Psoralen photosensitized damage of rat peritoneal exudate cells // *Photochem Photobiol.* 1991. V.53. P.633–637.
21. Mizuno N., Esaki K., Sakakibara J. et al. Structural elucidation of the 8-methoxypsoralen oxidized product that inhibits the chemotactic activity of polymorphonuclear neutrophils toward anaphylatoxin C5a // *Photochem Photobiol.* 1991. V.54. P.697–701.
22. Potapenko A.Ya., Kyagova A.A., Bezdtnaya L.N. et al. Products of psoralen photooxidation possess immunomodulative and antileukemic effects // *Photochem Photobiol.* 1994. V.60. P.171–174.
23. Kyagova A.A., Zhuravel N.N., Malakhov M.V. et al. Suppression of delayed type hypersensitivity and hemolysis induced by previously photooxidized psoralen: effect of fluence rate and psoralen concentration // *Photochem Photobiol.* 1997. V.65. P.694–700.
24. Caffieri S., Di Lisa F., Bolesani F. et al. The mitochondrial effects of novel apoptogenic molecules generated by psoralen photolysis as a crucial mechanism in PUVA-therapy // *Blood.* 2007. V.109 (11). P.4918–4994.
25. Потапенко А.Я., Бутов Ю.С., Левинзон Е.С. и др. Фотоокислительные реакции псораленов и их роль в терапии дерматозов // *Вестн. РАМН.* 1999. №2. С.32–38.
26. Лысенко Е.П., Осипов А.Н., Зубарев В.Е., Потапенко А.Я. Исследование продуктов фотоокисления псоралена методом спиновых ловушек // *Журн. физ. хим.* 1988. Т.62. С.3033–3037.
27. Rodenko I.N., Osipov A.N., Lysenko E.P., Potapenko A.Ya. Degradation of psoralen photo-oxidation products induced by ferrous ions // *J Photochem Photobiol B.* 1993. V.19. P.39–48.
28. Zhuravel N.N., Belichenko I.V., Kyagova A.A. et al. Activation of hemolysis induced by photooxidized psoralen (POP) by  $Fe^{2+}$  ions. The role of  $Fe^{2+}$  reactions with POP and erythrocytes // *Membr Cell Biol.* 1996 (10). P.381–387.
29. Potapenko A.Ya., Agamalieva M.A., Nagiev A.I. et al. Photohemolysis sensitized by psoralen: reciprocity law is not fulfilled // *Photochem Photobiol.* 1991. V.54. P.375–379.
30. Potapenko A.Ya., Saparov S.M., Agamalieva M.A. et al.  $Fe^{2+}$  ions and reduced glutathione — chemical activators of psoralen-sensitized photohemolysis // *J Photochem Photobiol B.* 1993. V.17. P.69–75.

31. Potapenko A.Ya., Bezdetnaya L.N., Lysenko E.P. et al. Hypothesis of the induction of psoralens phototoxic effects through the stage of photooxidized psoralens formation. Model studies of erythrocytes // Stud Biophys. 1988. V.124. P.205–223.
32. Mollaev R.E., Saparov S.M., Zhuravel N.N. et al. Effect of EDTA on psoralen-sensitized photohemolysis // Phys Chem Biol & Med. 1995 (2). P.21–25.
33. Saparov S.M., Zhuravel N.N., Mollaev R.E. et al. Effect of calcium ions on psoralen-sensitized photohemolysis // J Photochem Photobiol B. 1991. V.10. P.159–164.
34. Hanau D., Gachet C., Schmitt D.A. et al. Ultrastructural similarities between epidermal Langerhans cell Birbeck granules and the surface-connected canalicular system of EDTA-treated human blood platelets // J Invest Dermatol. 1991. V.97. P.756–762.
35. Morgan E.N. Calcium chelators induce association with detergent-insoluble cytoskeleton and functional inactivation of the transferrin receptors in reticulocytes // Biochim Biophys Acta. 1989. V.981. P.121–129.

**СТРАНИЧКА УЧЕНОГО СОВЕТА РНИМУ им. Н.И.ПИРОГОВА**

**Информация о защитах диссертаций  
на соискание ученой степени доктора наук  
в ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России**

Автор	Тема	Специальность
<b>Быкова Ольга Владимировна</b>	Диагностика и лечение рассеянного склероза у детей и подростков в условиях длительного катамнеза	14.01.11 — нервные болезни (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в НИИ педиатрии и на базе консультативно-диагностического центра ФГБУ «Научный центр здоровья детей» Российской академии медицинских наук. Научные консультанты — д.м.н., проф. О.И.Маслова; д.м.н., проф. А.Н.Бойко. Защита состоялась на заседании диссертационного совета Д 208.072.09 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		
<b>Федоров Виктор Федорович</b>	Методология анализа динамики количественных параметров функциональной диагностики сердечно-сосудистой системы	03.01.09 — математическая биология, биоинформатика (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант — д.м.н., проф. Т.В.Зарубина. Защита состоялась на заседании диссертационного совета Д 208.072.09 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		
<b>Назарова Сурайё Изатуллоевна</b>	Совершенствование организации медицинской помощи беременным женщинам с сахарным диабетом в регионе высокой рождаемости	14.02.03 — общественное здоровье и здравоохранение; 14.01.01 — акушерство и гинекология (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГУ «Таджикский научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и перинатологии» Министерства здравоохранения Республики Таджикистан. Научные консультанты — д.м.н., проф. С.М.Мухмадиева; д.м.н., проф. Н.Г.Кошелева. Защита состоялась на заседании диссертационного совета Д 208.072.06 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		
<b>Магомедова Шамай Магомедовна</b>	Пролапс митрального клапана у детей и подростков (диагностика, клиническая характеристика, дифференцированная тактика лечения и наблюдения)	14.01.08 — педиатрия (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Дагестанская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант — д.м.н., проф. И.М.Османов. Защита состоялась на заседании диссертационного совета Д 208.072.02 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		
<b>Джобава Элисо Мурмановна</b>	Беременность высокого риска по развитию акушерской патологии — система гемостаза и функция эндотелия. Системный подход к диагностике и терапии	14.01.01 — акушерство и гинекология (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант — д.м.н., проф. Ю.Э.Доброхотова. Защита состоялась на заседании диссертационного совета Д 208.072.02 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		