



Биолог. журн. Армении, 1 (70), 2018

## НЕИДЕНТИЧНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ УРОВНЯ И СУПЕРОКСИД-ПРОДУЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ИЗОФОРМ NADPH ОКСИДАЗЫ И СУПРОЛА ИЗ ВЕНОЗНОЙ И ПЛАЦЕНТАРНОЙ КРОВИ I-IV ГРУПП ЧЕЛОВЕКА

Р.М. СИМОНЯН<sup>1</sup>, М.А. БАБАЯН<sup>1</sup>, Г.М. СИМОНЯН<sup>1</sup> А.В. АРУТЮНЯН<sup>2</sup>,  
Р.А. АБРААМЯН<sup>2</sup>, М.А.СИМОНЯН<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт биохимии им. Г.Х.Бунятыана НАН РА

<sup>2</sup>Институт перинатологии, акушерства и гинекологии МЗ РА  
maxim.simonyan@gmail.com

С использованием открытого недавно процесса избирательного комплексообразования гемоглобина с изоформами NADPH оксидазы (Nox) и гемоглобин-индуцирующего релизинга изоформ Nox из биомембран в растворимую фазу была выделена высокоочищенная и нативная суммарная фракция изоформ Nox1+Nox2 из эритроцитарных мембран, экстрацеллюлярная Nox и O<sub>2</sub><sup>-</sup>-продуцирующий липопротеин высокой плотности – супрол, из сыворотки плацентарной и венозной крови I-IV групп человека. Удельное содержание и O<sub>2</sub><sup>-</sup>-продуцирующая активность этой прооксидантной системы плацентарной крови выше венозной, особенно крови у IV группы. В I-IV группах венозной и плацентарной крови наблюдаются неидентичные изменения уровня, оптических спектральных индексов и O<sub>2</sub><sup>-</sup>-продуцирующей активности вышеуказанной прооксидантной системы. Фактически такое увеличение прооксидантного статуса плацентарной крови необходимо для нормального развития плода. Полученные данные могут считаться новыми отличительными факторами между венозной и плацентарной кровью I-IV групп.

*Группа крови I-IV – NADPH оксидаза – супрол – супероксидный радикал*

Օգտագործելով վերջերս բացահայտված՝ հեմոգլոբինի և ՆԱԴՐՈ օքսիդազի (Nox) իզոմերների միջև առկա ընտրողական կոմպլեքսագոյացման և կենսաթաղանթներից Nox-ի իզոմերների՝ դեպի լուծելի ֆազ հեմոգլոբինով հարուցված արտազատման գործընթացը, մարդու երակային և ընկերքային I-IV խմբերի արյան էրիթրոցիտների թաղանթներից անջատվել են բարձր մաքրությամբ և նատիվությամբ օժտված Nox1+Nox2-ի գումարային ֆրակցիան, արյան շիճուկից՝ արտաբջջային Nox և սուպերօքսիդ-գոյացնող ու բարձր խտություն ունեցող լիպոպրոտեին – սուպրոլ: Այդ պրոօքսիդանտային համակարգի տեսակարար քանակությունը և O<sub>2</sub><sup>-</sup>-ի գոյացման ակտիվությունը ընկերքային արյան մեջ ավելի բարձր է, քան երակային արյան մեջ, հատկապես IV խմբում: Մարդու երակային և ընկերքային I-IV խմբերի արյան մեջ դիտվում են նշված պրոօքսիդանտային համակարգի մակարդակի, օպտիկական սպեկտրային ինդեքսների ու O<sub>2</sub><sup>-</sup>-ի գոյացման ակտիվության ոչ նույնանման փոփոխություններ: Փաստորեն ընկերքային արյան մեջ պրոօքսիդանտային կարգավիճակի աճն անհրաժեշտ է պտղի նորմալ աճի համար: Բերված տվյալները կարող են հանդիսանալ որպես երակային և ընկերքային I-IV խմբերի արյան նոր տարբերակիչ գործոններ:

*Արյան խմբեր I-IV – ՆԱԴՐՈ օքսիդազ – սուպրոլ – սուպերօքսիդ ռադիկալ*

Using the recently discovered process of selectively complex formation of the hemoglobin with isoforms of NADPH oxidase (Nox), localized in the surface layers of biomembranes and hemoglobin induced releasing of the isoforms of Nox to the soluble phase, the highlypurified and total fraction of native Nox1+Nox2 from erythrocytes membranes, extracellular Nox and O<sub>2</sub><sup>-</sup>-producing

lipoprotein from serum of the I-IV group of human venous and placental bloods are isolated. The specific content and  $O_2^-$ -producing activity of these prooxidative systems in placental blood is higher in comparison with venous blood, especially in IV group. In I-IV group of human venous and placental blood the nonidentical changes of the level, the optical spectral index and  $O_2^-$ -producing activity of these prooxidative system is observed. In fact, the increase of prooxidative status of the placental blood for the normal development of the baby is required. These changes can be considered a new distinctive feature between I-IV group of human venous and placental blood.

*Blood group I-IV – NADPH oxidase – suprol – superoxide radical*

Известно, что основные отличия между группами крови связаны с наличием агглютининов (а и b) и агглютиногенов (А и В). С выделением новой прооксидантной системы сыворотки крови человека – NADPH содержащего,  $O_2^-$ -продуцирующего липопротеина высокой плотности (супрола) [6], экстрацеллюлярной NADPH оксидазы (eNox) из сыворотки крови [9], а также суммарной фракции изоформ Nox (Nox1+Nox2) из эритроцитарных мембран [8], появилась возможность для комплексного определения и сравнения удельного содержания,  $O_2^-$ -продуцирующей активности изоформ Nox и супрола из венозной и плацентарной крови человека I-IV групп. С использованием открытого недавно процесса избирательного комплексообразования между изоформами Nox с гемоглобином, изоформы Nox выделяются не только из клеточных мембран и мембран внутриклеточных формирований, но и из мембранных формирований наночастиц – экзосом сыворотки крови (eNox) [3]. Супрол и приведенные изоформы Nox претерпевают характерные количественные и качественные изменения при различных патологических состояниях и заболеваниях в эксперименте и клинике (злокачественные новообразования, диабет, интоксикация тяжелыми металлами и т.д.) [2]. За счет продуцируемых  $O_2^-$  прооксидантная система регулирует иммунную систему, экспрессию гена, митохондриальное дыхание, кислородный гомеостаз, пролиферацию и апоптоз клеток и другие важные процессы аэробного метаболизма [1]. Однако к настоящему времени в литературе отсутствуют данные об изменениях приведенной прооксидантной системы, регуляторов метаболизма активного кислорода в сыворотке венозной и плацентарной крови I-IV групп человека. Определение этих показателей может по новому характеризовать факторы различия между группами венозной и плацентарной крови человека.

Целью работы являлось нахождение различий между группами венозной и плацентарной крови I-IV групп, ассоциированные с характерными изменениями уровня и активности супрола, eNox и суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2, выделенных из приведенных групп крови.

**Материал и методика.** Свеженабранную донорскую и плацентарную кровь (по 20 мл) I-IV групп в отдельности стабилизировали 2 %-ным цитратом натрия с 0,9 %-ной глюкозой.

**Выделение сыворотки и эритроцитов.** Сыворотку и эритроциты выделяли методом осаждения центрифугированием [8]. После осаждения эритроцитов путем центрифугирования крови при 5500×g, сыворотку отделяли. После промывания осажденных эритроцитов 0,9 %-ной NaCl (1:40 об/об) и повторного центрифугирования в аналогичных условиях осевший на поверхности осажденных эритроцитов белый слой плазменных элементов удаляли. Далее эритроциты смешивали с физраствором (1:500 об/об) и после самоосаждения последних при 4°C удаляли верхний слой раствора, а эритроциты собирали центрифугированием в приведенных условиях. После гемолиза эритроцитов в воде (1:20 об/об) и осаждения эритроцитарных мембран (ЭМ) центрифугированием гемолизата при 13000×g в течение 15 мин ЭМ промывали 0,04 М калий-фосфатным буфером (КФБ, pH 7,4) до получения бесцветного супернатанта. Сыворотку крови дополнительно центрифугировали для удаления следов осажденных эритроцитов.

**Выделение фракции изоформ Nox1+Nox2 из ЭМ.** Из ЭМ суммарную фракцию нативных изоформ Nox1+Nox2 выделяли путем ионообменной хроматографии фракции этих

белков на целлюлозе DE-52 (“Whatman”, Англия). Денатурирующие агенты (ультразвук, перекись водорода и детергент) не применялись. В процессе использовали избирательное комплексообразование между гемоглобином и локализованными на поверхностных слоях биомембран изоформами Nox. Суммарная фракция изоформ Nox из колонки DE-52 элюировали 0,1 М КФБ, pH 7,4 [8].

**Выделение суммарной фракции изоформ экстрацеллюлярной Nox1+Nox2 из сыворотки крови.** Суммарную фракцию изоформ Nox (Nox1+Nox2) из мембранных формирований наночастиц экзосом, локализованных в сыворотке крови, выделяли приведенным лицензированным способом. После инкубации (при 37<sup>0</sup>С, в течение часа, при pH 7,4) сыворотки крови с 10<sup>-5</sup> М ферригемоглобина и центрифугирования супернатант подвергали ионообменной хроматографии на колонке с сефадексом DEAEА-50 (3×8 см). Суммарную фракцию eNox элюировали 0,04 М КФБ и подвергали ионообменной хроматографии на целлюлозе DE-52 [8].

**Выделение фракции супрола из сыворотки крови и его активирование.** Супрол из сыворотки крови выделяли путем осаждения фракции этого НАДРН содержащего липопротеина высокой плотности добавлением FeCl<sub>3</sub> (10<sup>-6</sup>М) с дальнейшим центрифугированием при 5800×g 10 мин. При этом ионы Fe<sup>+3</sup> активируют супрол, переводя электрон от НАДРН в составе супрола к молекулярному кислороду, превращая его в O<sub>2</sub><sup>-</sup> [6].

**Определение количества изоформ Nox и супрола.** Удельное содержание суммарной фракции изоформ eNox и супрола из сыворотки крови и суммарной фракции изоформ Nox ЭМ (после их обессоливания и вакуумной лиофилизации) определяли в расчете на 1 мг/мл сыворотки и 1 мг/мл эритроцитов соответственно.

**Определение O<sub>2</sub><sup>-</sup> продуцирующей активности изоформ Nox и супрола.** O<sub>2</sub><sup>-</sup> продуцирующую активность изоформ Nox определяли методом нитротетразолиевого синего (НТС) [2] с добавлением к реакционной смеси 10 мкМ динатриевой соли NADPH. При определении O<sub>2</sub><sup>-</sup> продуцирующей активности супрола динатриевая соль NADPH к реакционной смеси не добавляется, так как в составе молекулы супрола уже имеется достаточное количество эндогенного NADPH [6]. При этом 1М O<sub>2</sub><sup>-</sup> восстанавливает 1М НТС, превращая его в 1М формазана. За единицу O<sub>2</sub><sup>-</sup> продуцирующей активности принимается то количество изоформ Nox или супрола, которое вызывает 50 %-ное увеличение плотности максимального оптического поглощения образовавшегося формазана при 560 нм. Удельная O<sub>2</sub><sup>-</sup> продуцирующая активность изоформ Nox и супрола была определена в расчете на 1 мг приведенных белков (ед/мг).

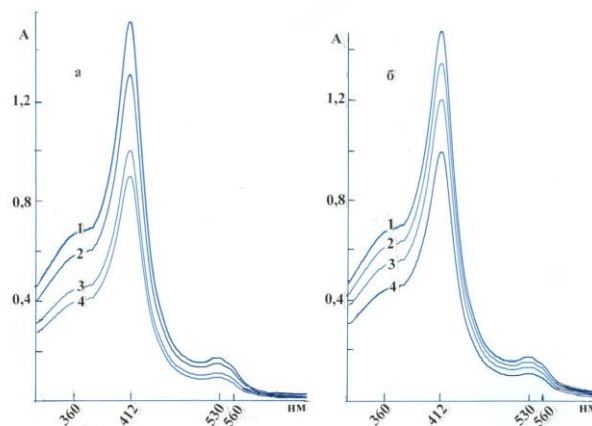
Оптические спектры поглощения регистрировались на спектрофотометре “Specord UV/VIS” (Германия) с длиной оптического пробега 1 см при комнатной температуре.

Статистическую обработку полученных результатов проводили по Стьюденту, с определением критерия достоверности “р” (M±m). Число опытов 6 (n=6).

**Результаты и обсуждение.** Приведенным лицензированным способом из мембранных формирований наночастиц – экзосом сыворотки и жидкости асцитных карцином получают нативные и высокоочищенные (95-96 %) изоформы суммарной фракции Nox1+Nox2 [4] и Nox из ЭМ венозной и плацентарной крови I-IV групп. За счет NO\*, локализованного в лигандном окружении железа гемовой группы изоформ Nox [5, 10,11, 14], ферригемоглобин избирательно образует нитрозогемоглобиновый комплекс с этими Nox, локализованными на поверхностных слоях различного характера клеточных мембран и мембран внутриклеточных формирований млекопитающих (митохондрии, ядра, микросомы и наночастицы) Nox. После такого комплексообразования наблюдается гемоглобин-индуцированный релизинг (отщепление) этих Nox из гетерогенной фазы (из биомембран) в растворимую. С другой стороны, при получении изоформ Nox не используются денатурирующие изоформы Nox агенты (перекись водорода, детергент и ультразвук) [8, 9, 13,14], как это имеет место при широко распространенном иммуноэлектрофоретическом методе Western-Blotting [3, 4, 11-13].

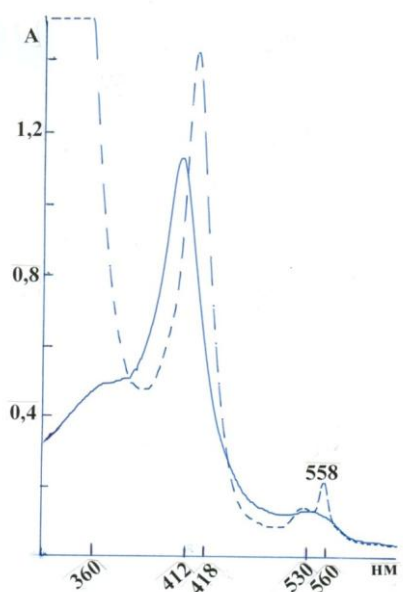
Таким образом, полученные нами изоформы Nox более нативны и получаются в аналитических и препаративных целях в течение всего 4-5 ч, что немаловажно для исследования приведенных слабостабильных мембранных белков.

Оптические спектры поглощения суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из ЭМ венозной и плацентарной крови I-IV групп приведены на рис.1.



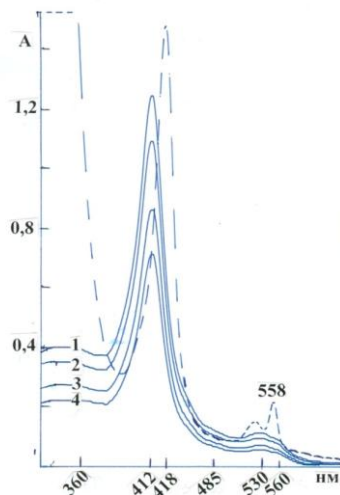
**Рис.1.** Оптические спектры поглощения суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из ЭМ венозной (а) и плацентарной (б) крови I-IV групп. Белки растворены в 0,1М КФБ, рН 7,4.

В окисленном состоянии и после восстановления дитионитом натрия суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из мембран эритроцитов I-IV групп венозной и плацентарной крови по форме и максимумам характерных оптических поглощений не отличаются (рис.1-2).



**Рис.2.** Форма оптических спектров поглощения суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из венозной и плацентарной крови I-IV групп в окисленном состоянии (—) и после их восстановления дитионитом натрия (----) на примере изоформ Nox1+Nox2 из ЭМ I группы крови (показатели изоформ Nox остальных групп претерпевают такие же изменения и не приводятся).

Как показано на рис. 3, по форме и максимумам характерных оптических поглощений изоформы суммарной фракции Nox1+Nox2 из мембран экзосом сыворотки I-IV групп венозной и плацентарной крови в окисленном состоянии (—) и после восстановления дитионитом натрия (----) не отличаются.



**Рис.3.** Форма оптических спектров поглощения суммарной фракции изоформ экстрацеллюлярной Nox1+Nox2 из сыворотки венозной и плацентарной крови I-IV групп (1-4) в окисленном состоянии (—) и после их восстановления дитионитом натрия (----). Изоформы Nox растворены в 0,04 М КФБ, рН 7,4.

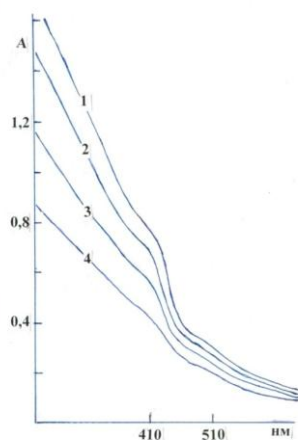
По форме оптические спектры поглощения супрола из сыворотки венозной и плацентарной крови I-IV групп крови не отличаются. Однако супролы из сыворотки плацентарной крови I-IV групп практически полностью растворяются в 0,04 М КФБ, в отличие от супрола сыворотки венозной крови приведенных групп. В случае сыворотки венозной крови растворимость супрола сохраняется в течение 2 сут, далее происходит самоагрегация и потеря растворимости супрола практически без потери  $O_2^-$ -продуцирующей активности (рис. 4).

Удельное содержание (мг/мл эритроцитов) суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из ЭМ I-IV групп несколько отличаются друг от друга. Их удельное содержание несколько выше в ЭМ II и IV групп венозной и плацентарной крови (табл.1).

Эта закономерность практически не наблюдается для суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из сыворотки венозной и плацентарной крови. Их удельное содержание также выше у изоформ eNox из плацентарной крови (табл.2).

Неидентично изменяется удельное содержание супрола из сыворотки венозной и плацентарной крови I-IV групп (табл. 3). На фоне снижения уровня супрола из сыворотки венозной крови I, II и IV групп, в III группе наблюдается существенное повышение удельного содержания супрола из сыворотки плацентарной крови IV группы (табл. 3).

Удельная  $O_2^-$ -продуцирующая активность суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из ЭМ венозной и плацентарной крови изменяется в разных пределах, и эта активность выше у изоформ Nox из ЭМ IV группы, особенно плацентарной крови (табл. 4).



**Рис.4.** Оптические спектры поглощения свежеполученной фракции супрола из сыворотки плацентарной крови I-IV групп человека (1-4). Аналогичные данные получают и для супрола из сыворотки венозной крови I-IV групп человека и не приводятся. Фракции супрола растворены в 0,04 М КФБ, рН 7,4.

**Таблица 1.** Удельное содержание (мг/мл эритроцитов) суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из ЭМ венозной и плацентарной крови I-IV групп,  $p < 0,05$ ,  $n = 6$ .

Источники суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2	I	II	III	IV
ЭМ венозной крови	0,10±0,01	0,20±0,015	0,18±0,02	0,25±0,01
ЭМ плацентарной крови	0,14±0,01	0,26±0,02	0,21±0,01	0,29±0,012

**Таблица 2.** Удельное содержание (мг/мл сыворотки) суммарной фракции изоформ экстрацеллюлярной Nox1+Nox2 из сыворотки венозной и плацентарной крови I-IV групп человека,  $p < 0,05$ ,  $n = 6$ .

Источники суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2	I	II	III	IV
Сыворотка венозной крови	0,02±0,003	0,015±0,002	0,010±0,001	0,023±0,001
Сыворотка плацентарной крови	0,031±0,003	0,028±0,002	0,035±0,001	0,044±0,002

**Таблица 3.** Удельное содержание (мг/мл сыворотки) фракции супрола из сыворотки венозной и плацентарной крови I-IV групп,  $p < 0,05$ ,  $n = 6$ .

Источники фракции супрола	I	II	III	IV
Сыворотка венозной крови	0,11±0,02	0,09±0,003	0,08±0,005	0,07±0,004
Сыворотка плацентарной крови	0,15±0,001	0,13±0,001	0,14±0,002	0,22±0,003

**Таблица 4.** Удельная  $O_2^-$ -продуцирующая активность (ед/мг) суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из ЭМ венозной и плацентарной крови I-IV групп,  $p < 0,05$ ,  $n = 6$ .

Источники продуцирования $O_2^-$	I	II	III	IV
Фракция Nox1+Nox2 из ЭМ венозной крови	47,4±5,1	78,2±6,3	62,4±4,3	82,7±7,1
Фракция Nox1+Nox2 из ЭМ плацентарной крови	56,4±3,9	88,2±7,7	71,6±5,4	93,8±7,9

Динамика изменения удельной  $O_2^-$ -продуцирующей активности суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из сыворотки венозной и плацентарной крови человека I-IV групп (ед/мг) также различна. Эта активность сравнительно выше у суммарной фракции eNox из сыворотки плацентарной крови IV группы (табл. 5).

**Таблица 5.** Удельная  $O_2^-$ -продуцирующая активность суммарной фракции изоформ Nox1+Nox2 из сыворотки венозной и плацентарной крови I-IV групп (ед/мг)  $p < 0,05$ ,  $n = 6$ .

Источники продуцирования $O_2^-$	I	II	III	IV
Суммарная фракция изоформ Nox1+Nox2 из сыворотки венозной крови	83,4±7,3	140.2±10,0	139.4±11,2	155,7±12,3
Суммарная фракция изоформ Nox1+Nox2 из сыворотки плацентарной крови	92,4±9,1	160,2±14,3	170,6±14,1	191.8±15,3

На этом фоне наблюдается увеличение удельной  $O_2^-$ -продуцирующей активности супрола (ед/мг) из сыворотки венозной и плацентарной крови I-IV групп (табл.6), которая намного выше у супрола из плацентарной крови.

**Таблица 6.** Удельная  $O_2^-$ -продуцирующая активность супрола (ед/мг) из сыворотки венозной и плацентарной крови человека,  $p < 0,05$ ,  $n = 6$ .

Источники продуцирования $O_2^-$	I	II	III	IV
Супрол из сыворотки венозной крови	160±10,2	174±11,1	195±14,3	211±21,0
Супрол из сыворотки плацентарной крови	210±19,2	218±19,9	230±22,3	280±25,1

Таким образом, в подавляющем большинстве уровень и  $O_2^-$ -продуцирующая активность прооксидантной системы плацентарной крови выше, чем венозной, особенно крови IV группы. Фактически такое увеличение прооксидантного статуса крови необходимо для нормального развития плода.

Можно заключить, что наряду с общеизвестными различиями между I-IV группами крови, в подавляющем большинстве случаев наблюдаются неидентичные изменения уровня и  $O_2^-$ -продуцирующей активности прооксидантной системы (изоформы Nox ЭМ, eNox и супрол из сыворотки).

Полученные данные могут рассматриваться в качестве новых отличительных черт венозной и плацентарной крови I-IV групп.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Алексян М.К., Симонян Г.М., Алексян Серг.С., Симонян Р.М., Ширинян В.С., Алексян С.С., Симонян М.А., Степанян Г.М.* Вопросы. Повышение уровня экстрацеллюлярной NADPH оксидазы в асцитной карциноме легких человека. Вопросы. Теорет.клин.мед., 15, 1, с. 10-12, 2012.
2. *Мелконян Л.Г., Алексян А.С., Симонян Р.М., Симонян Г.М., Бабаян М.А., Секоян Э.С., Симонян М.А.* Влияние двуокиси углерода на уровень и активность изоформ NADPH-оксидазы in vitro и ex vivo. Медицина, Наука и Образование, 9, 8-12, 2011.
3. *Симонян Г.М., Алексян С.С., Алексян А.С., Степанян А.А., Бабаян М.А., Симонян М.А.* Различная степень релизинга изоформ цитохрома  $b_{558}$  из эритроцитарных мембран и комплексообразования гемоглобина с цитохромом  $b_{558}$ . Мед.наука Армении, XLIV, 3, 47-50, 2004.

4. *Симонян Г.М., Григорян Г.Г., Симонян Р.М., Симонян М.А.* Высокая резистентность сывороточных цитохромов  $b_{558}$  против перекиси водорода по сравнению с другими гемопотеинами. В кн. Актуальные вопросы военной медицины. Сборник статей ЕрГМУ им М. Гераци, Ереван, 48-51, 1999.
5. *Симонян Г.М., Симонян Р.М., Бабаян М.А., Симонян М.А., Галоян А.А.* ФАД и углеводные остатки в составе ЭМ цитохрома  $b_{558}III$ , его NADPH-зависимая  $O_2^-$ -продуцирующая активность и ЭПР спектральные характеристики. Мед. наука. Армении, *XLIII*, 1, 30-34, 2003.
6. *Симонян М.А., Карапетян А.В., Бабаян М.А., Симонян Р.М.* NADPH-содержащая супероксид-продуцирующая липопротеиновая фракция из сыворотки крови, выделение, очистка, краткие характеристики и механизм действия. Биохимия, *61*, 5, 932-938, 1996.
7. *Симонян Р.М.* Механизмы оксидативного повреждения клеток тканей млекопитающих и защитные факторы (обзор). Теорет. Клин.Мед., *19*, 3, 41-49, 2016.
8. *Симонян Р.М., Симонян Г.М., Симонян М.А.* Способ выделения изоформ NADPH оксидазы (Nox) из биосистем. Лицензия изобретения агенства индивидуальной собственности РА N2818 А, Ереван, 2014.
9. *Симонян Р.М., Ширинян С.В., Бабаян М.А., Алексанян А.С., Симонян Г.М., Григорян А.Ф., Алексанян С.С., Симонян М.А.* Активность, степень отщепления и комплексообразование с ферригемоглобином изоформ NADPH оксидазы из эритроцитарных мембран и экзосом сыворотки пациентов, носителей рака желудка. Биолог. журн. Армении, Приложение *66,1*, 83-88, 2014.
10. *Jonathan S. Stamler, Li Jia, Jerry P. Eu, Timothy J. McMahon, Ivan T. Demchenko, Joseph Bonaventura, Kim Gernert, Claude A. Piantadosi* Blood Flow Regulation by S-Nitrosohemoglobin in the Physiological Oxygen Gradient. *Science*, *276*, 5321, 2034-2037, 1997. *Karen Bedard, Karl-Heinz Krause.* Physiological Reviews, *87*, 1, 245-313, 2007.
11. *Karapetyan A.V., Simonyan G.M., Anne-Frances Miller, Bert Lynn Jr, Babayan M.A., Simonyan R.M., Simonyan M.A.* Cytochromes  $b_{558}III$  from erythrocyte membranes: some physicochemical properties. 227<sup>th</sup> ACS National Meeting, Anaheim, CA, 2004.
12. *Karen Bedard, Karl-Heinz Krause.* Physiological Reviews, The Nox family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. Physiological Reviews, *87*, 1, 245-313, 2007.
13. *Simonyan G.M.* The denaturing effect of ultrasound on the erythrocyte membranes cytochrome  $b_{558}$  ex vivo and in vitro. Electronic J. of Natural Sciences of NAS RA, *1*, 10, 10-12, 2008.
14. *Simonyan R.M., Simonyan G.M., Oxuzyan G.R., Alexanyan S.S., Simonyan M.A.* The hemoglobin induces releasing of the extracellular NADPH oxidase in mammalian blood serum and fluids of ascitic carcinomas in vitro and in vivo. Issues in theoretical and clinical medicine, *17*, 2, 16-21, 2014.

Поступила 16.10.2017