

# ВЛИЯНИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ ГАЗОРАЗРЯДНОЙ ПЛАЗМЫ НА МОДИФИКАЦИЮ БЕЛКОВ ЭРИТРОЦИТОВ

УДК 57.043:537.5:612.111  
Поступила 8.04.2014 г.



**С.В. Трофимова**, научный сотрудник отдела физико-химических исследований ЦНИЛ<sup>1</sup>; лаборант кафедры биомедицины<sup>2</sup>;

**О.Е. Бурхина**, аспирант кафедры биомедицины<sup>2</sup>;

**И.М. Пискарев**, к.ф.-м.н., ведущий научный сотрудник<sup>3</sup>;

**А.А. Ичеткина**, младший научный сотрудник отдела физико-химических исследований ЦНИЛ<sup>1</sup>; аспирант кафедры биомедицины<sup>2</sup>;

**Т.И. Соловьева**, к.б.н., старший научный сотрудник отдела биохимии ЦНИЛ<sup>1</sup>;

**К.А. Астафьева**, студент кафедры биомедицины<sup>2</sup>;

**Е.С. Пугина**, студент кафедры биомедицины<sup>2</sup>;

**И.П. Иванова**, д.б.н., зав. отделом физико-химических исследований ЦНИЛ<sup>1</sup>; профессор кафедры биомедицины<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород, 603005, пл. Минина и Пожарского, 10/1;

<sup>2</sup>Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского — Национальный исследовательский университет, Н. Новгород, 603950, проспект Гагарина, 23;

<sup>3</sup>НИИ ядерной физики им. Д.В. Скобельцына Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, 119992, Ленинские горы

**Цель исследования** — оценить влияние излучения плазмы искрового разряда на окислительную модификацию белков в растворах и эритроцитах в экспериментах *in vitro*.

**Материалы и методы.** Формирование импульсного искрового разряда, генерирующего излучение низкотемпературной плазмы, осуществляли с помощью экспериментального устройства ПИЛИМИН серии ИР-10 (Россия). Характеристики разряда: емкость импульсного конденсатора — 3,3 нФ, балластное сопротивление — 10 МОм, напряжение источника питания — 11 кВ, частота повторения импульсов — 10 Гц. В качестве объектов исследования использовали растворы триптофана, альбумина, гемоглобина и суспензии эритроцитов интактных животных и животных с экспериментальной саркомой. Обработку проб объемом 4 мл производили в стерильных пластиковых чашках Петри. О структурном состоянии молекул триптофана, альбумина и гемоглобина судили по УФ-спектрам поглощения. Степень окислительного повреждения белков в растворах и клетках оценивали по флуоресценции битирозина и триптофана.

**Результаты.** Возрастание окислительной модификации белков в растворах после излучения плазмы искрового разряда обусловлено наличием комплексов молекул триптофана, альбумина и гемоглобина с нитросоединениями, радикалами азота, гидропероксидными радикалами, образующимися в процессе генерации разряда. Белковые структуры эритроцитов животных с экспериментальной саркомой характеризуются более выраженной окислительной модификацией по сравнению с эритроцитами интактных животных. Окислительная модификация белков эритроцитов под действием излучения плазмы в большей степени обусловлена накоплением битирозинных шивок.

**Ключевые слова:** излучение газоразрядной плазмы; модификация белков; флуоресценция битирозина и триптофана; УФ-спектры белков; флуоресценция белков эритроцитов.

**Для контактов:** Иванова Ирина Павловна, тел. раб. 8(831)465-42-81, тел. моб. +7 920-059-40-28; e-mail: ivanova.ip@mail.ru

English

## The Effect of Gas-Discharge Plasma Radiation on Erythrocyte Protein Modification

**S.V. Trofimova**, Research Worker, the Department of Physicochemical Researches, Central Scientific Research Laboratory<sup>1</sup>; Laboratory Technician, the Department of Biomedicine<sup>2</sup>;  
**O.E. Burkina**, Postgraduate, the Department of Biomedicine<sup>2</sup>;  
**I.M. Piskaryov**, PhD, Leading Research Worker<sup>3</sup>;  
**A.A. Ichetkina**, Junior Research Worker, the Department of Physicochemical Researches, Central Scientific Research Laboratory<sup>1</sup>; Postgraduate, the Department of Biomedicine<sup>2</sup>;  
**T.I. Solovyova**, PhD, Senior Research Worker, Biochemistry Unit, Central Scientific Research Laboratory<sup>1</sup>;  
**K.A. Astafieva**, Student, the Department of Biomedicine<sup>2</sup>;  
**E.S. Pugina**, Student, the Department of Biomedicine<sup>2</sup>;  
**I.P. Ivanova**, D.Bio.Sc., Head of the Department of Physicochemical Researches, Central Scientific Research Laboratory<sup>1</sup>; Professor, the Department of Biomedicine<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Nizhny Novgorod State Medical Academy, Minin and Pozharsky Square, 10/1, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603005;

<sup>2</sup>Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod — National Research University, Prospekt Gagarina, 23, Nizhny Novgorod, Russian Federation, 603950;

<sup>3</sup>Skobeltsyn Institute of Nuclear Physics, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, Moscow, Russian Federation, 119992

**The aim of the investigation** was to estimate the effect of spark plasma radiation on oxidative protein modification in solutions and erythrocytes in experiments and *in vitro*.

**Materials and Methods.** Pulse spark discharge generating low-temperature plasma radiation was formed using an experimental device PILIMIN series IR-10 (Russia). The characteristics of a discharge were the following: capacity of pulse capacitor — 3.3 nF, ballast resistance — 10 MΩ, power supply voltage — 11 kV, pulse recurrence frequency — 10 Hz. Tryptophan, albumin, hemoglobin solutions, and erythrocyte suspensions of intact animals and animals with experimental sarcoma were used as research subjects. 4 ml samples were treated in sterile Petri plates. Structural state of tryptophan, albumin and hemoglobin molecules was assessed by UV absorption spectra. Oxidative protein damage degree in solutions and cells was estimated by tyrosine and tryptophan fluorescence.

**Results.** The increase of oxidative protein modification in solutions after spark discharge plasma radiation is due to the presence of complexes of tryptophan, albumin and hemoglobin molecules with nitro compounds, nitric radicals, hydroperoxyl radicals formed under discharge generation. Erythrocyte protein structures of animals with experimental sarcoma are characterized by more intense oxidative modification compared to erythrocytes of intact animals. Oxidative modification of erythrocyte proteins under plasma radiation to greater degree is due to the accumulation of tyrosine cross-links.

**Key words:** gas-discharge plasma radiation; protein modification; tyrosine and tryptophan fluorescence; UV-spectrum of proteins; erythrocyte protein fluorescence.

В предыдущих исследованиях авторов было установлено, что излучение плазмы генерирует активные частицы [1], способные вызывать окислительные повреждения липидных и белковых молекул клеток. Хорошо известно, что липидные молекулы участвуют в реакциях со свободными радикалами. Однако проведенные эксперименты показали, что под действием излучения плазмы не происходит интенсификации процессов перекисного окисления липидов как в модельных растворах холестерина, триглицеридов, общих липидов [2], так и в прокариотических и эукариотических клетках [3, 4]. Аминокислоты, составные части белковых макромолекул и пептидов, также являются мишенями для радикального окисления. Свободные радикалы атакуют белки по всей длине полипептидной цепи, нарушая не только первичную, но и вторичную, и третичную структуру белков, что делает их более чувствительными к протеолизу, приводит к инактивации ферментов, нару-

шению нативной конформации белков с образованием крупных белковых конгломератов или фрагментации молекул [5, 6].

Таким образом, целостность структурной организации и функциональная активность белковых молекул являются одним из важнейших факторов, определяющих регуляцию клеточной активности и ее жизнеспособность. Так как установлено биоцидное действие излучения плазмы [3, 4], а вопрос о механизмах окисления белков до настоящего момента остается открытым, исследование влияния излучения плазмы искрового разряда как на монокомпонентные растворы аминокислот и белков, так и на белковые молекулы клеток является актуальным.

**Цель исследования** — оценить влияние излучения плазмы искрового разряда на окислительную модификацию белков в растворах и эритроцитах в эксперименте *in vitro*.

**Материалы и методы.** Излучение низкотемпературной плазмы генерировалось в процессе формирования искрового разряда, осуществляемого с помощью экспериментального устройства ПИЛИМИН серии ИР-10. Устройство разработано в НИИ ядерной физики им. Д.В. Скобельцына МГУ им. М.В. Ломоносова (Россия) в 2011 г. Характеристики используемого искрового разряда: длительность импульса — 100 мкс, длительность переднего фронта — 50 нс, напряжение источника питания — 11 кВ, емкость импульсного конденсатора — 3,3 нФ, балластное сопротивление — 10 МОм, энергия импульса —  $5,9 \cdot 10^{-2}$  Дж, частота повторения импульсов — 10 Гц.

Эксперимент проходил в два этапа. На первом этапе объектами исследования были модельные растворы: D-триптофана (Reanal, Венгрия), альбумина сывороточного бычьего (Biomed-Krakov, Польша), гемоглобина бычьего (Koch-Light Laboratories Ltd., Англия). Предварительно выявлялась линейная зависимость уровня флуоресценции вещества от концентрации. Используемые в исследовании концентрации (триптофана — 0,05 мМ, альбумина — 0,005%, гемоглобина — 0,00014%) позволяли регистрировать максимально возможный уровень флуоресценции и исключали тушение флуоресценции избыточной концентрацией вещества. Исследуемые вещества разводили в стерильном растворе Хенкса и 4 мл пробы обрабатывали излучением плазмы искрового разряда в течение 30, 60, 300, 600 и 1200 с в стерильных пластиковых чашках Петри. Для исследуемых растворов оценивали УФ-спектры поглощения и флуоресценцию битирозина и триптофана. Контролем служили растворы, не подвергавшиеся воздействию излучением плазмы.

На втором этапе исследования проводили на суспензиях эритроцитов интактных животных и животных с экспериментальной саркомой. Гепаринизированную кровь получали путем декапитации животных под эфирным наркозом. Эритроциты трижды отмывали стерильным раствором Хенкса (центрифугировали 10 мин при 3000 об./мин), для исследования готовили суспензию эритроцитов в растворе Хенкса 1:800. Суспензии клеток объемом 4 мл обрабатывали излучением плазмы в течение 30, 60, 300, 600 и 1200 с в стерильных пластиковых чашках Петри. Для оценки окислительной модификации внутриклеточных и надмембранных белковых структур после воздействия излучением плазмы проводили гемолиз эритроцитов: в кювету вносили 1,5 мл суспензии эритроцитов и 1,5 мл дистиллированной воды и измеряли интенсивность флуоресценции триптофана и битирозина в гемолизате. Уровень флуоресценции триптофана и битирозина относили к количеству общего гемоглобина и выражали в относительных единицах на грамм белка. Концентрацию общего гемоглобина во взвеси эритроцитов измеряли гемоглобиноцианидным методом с помощью набора «Гемоглобин-агат» («Агат-Мед», Россия). Контролем служили суспензии эритроцитов, не подвергавшиеся воздействию излучением плазмы.

Все измерения проведены на спектрофлуориметре «Флюорат-02 ПАНОРАМА» (Россия).

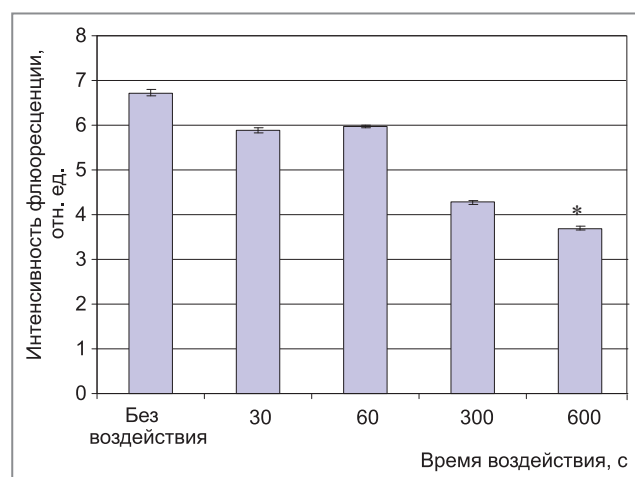
Спектрофотометрические измерения для модельных растворов выполнены в интервале длин волн 200–400 нм. Данный интервал поглощения характерен для продуктов излучения плазмы и для большинства органических соединений.

Интенсивность флуоресценции для битирозина изучали на длинах волн возбуждения 270–360 нм, испускания — 425 нм; для триптофана — на длинах волн возбуждения 280–290 нм, испускания — 350 нм [5].

Данные, полученные в эксперименте, обрабатывали статистически с помощью пакетов прикладных программ Excel, Statistica 6.0. Результаты представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — среднее арифметическое,  $m$  — ошибка среднего. Статистическую значимость различий средних определяли по критерию Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Анализ окислительной модификации молекул триптофана в растворе выявил снижение интенсивности флуоресценции аминокислоты с увеличением времени воздействия излучением газоразрядной плазмы (рис. 1). Данное снижение может свидетельствовать о нарушениях в структуре молекул триптофана [6]. Поскольку известно, что большинство органических соединений имеют полосы поглощения в ультрафиолетовой области, анализ спектров поглощения позволяет детально оценить структурные модификации биомолекул [7].

При исследовании спектров поглощения растворов триптофана после обработки излучением плазмы обнаружено возрастание поглощения на длинах волн 230 и 360 нм, а также сдвиг полосы поглощения в коротковолновую область: с 280 к 260 нм (рис. 2). По данным литературы, за поглощение в области 230 нм отвечают  $n-\pi^*$  переходы в C-H-связях пиррольного кольца триптофана [8], а также радикалы гидроперекисей [9]. Установленным является факт, что при генерации искрового разряда образуются активные частицы, в частности радикалы  $\text{HO}_2$  [1, 10]. Возможно, что увеличение пика на 230 нм, находящееся в прямой зависимости от



**Рис. 1.** Интенсивность флуоресценции раствора триптофана в концентрации 0,05 мМ после воздействия излучением плазмы; \* — статистическая значимость различий значений по сравнению с контрольной необработанной серией,  $p < 0,05$

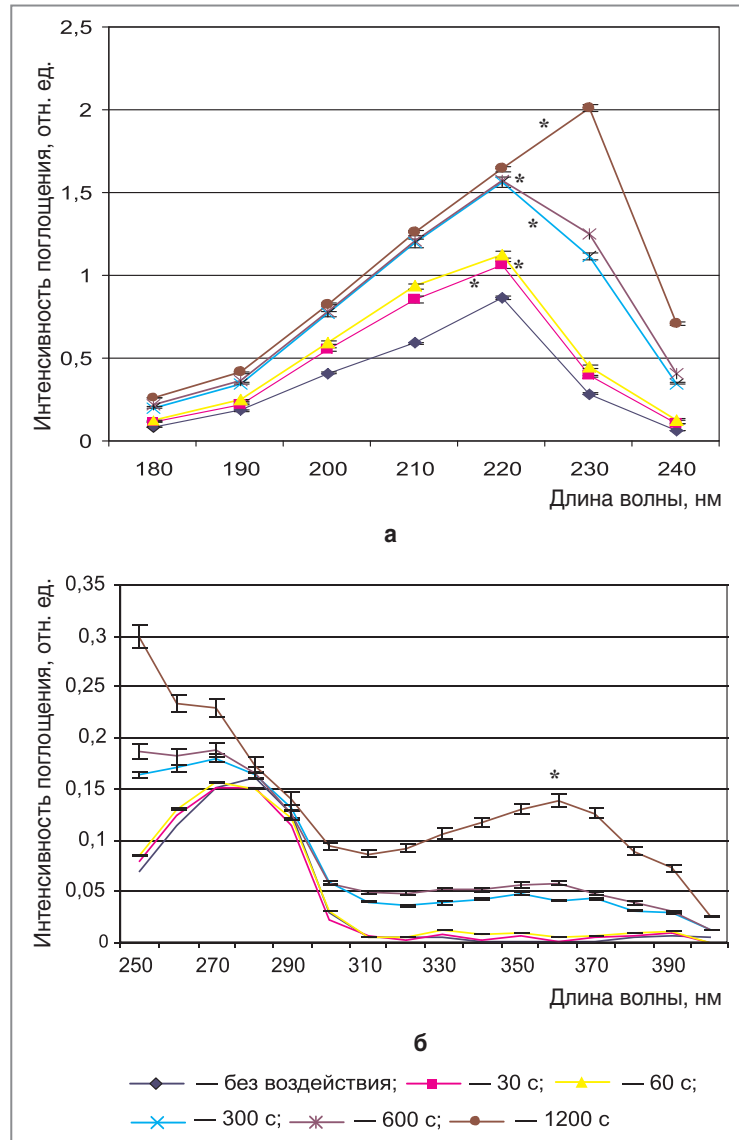
времени обработки, связано с присоединением радикала  $\text{HO}_2$  к пиррольному кольцу триптофана. Сдвиг полосы поглощения триптофана может происходить в результате возбуждения молекулы излучением плазмы и смещения электронной плотности с атома азота к кислороду, что свидетельствует об уменьшении стабильности молекулы и, в частности, может являться следствием образования ассоциации «белок–белок» и денатурации [11].

Полоса поглощения на 360 нм соответствует области поглощения электронных пар азота и связи  $-\text{N}=\text{N}-$  [12]. Генерация излучения плазмы искрового разряда сопровождается накоплением в газоразрядном промежутке и жидкой фазе таких активных частиц, как ионы  $\text{NO}^-$ ,  $\text{NH}^+$ , нитрозамины [1, 10]. Регистрируемое возрастание пика на 360 нм может быть обусловлено образованием комплексов нитросоединений и бензольного кольца триптофана.

При исследовании окислительной модификации молекул альбумина после воздействия излучением наблюдалось значительное снижение уровня флюоресценции триптофана — в 4 раза (табл. 1). Триптофановые остатки входят в состав второго домена первого центра связывания альбуминовой глобулы [13], и, следовательно, тушение флюоресценции триптофана после воздействия излучением плазмы может свидетельствовать о структурных изменениях как в аминокислотах, так и в молекуле альбумина в целом.

При исследовании модификации гемоглобина после воздействия излучением выявлено статистически значимое накопление битириновых сшивок при обработке в течение 60 с и снижение флюоресценции с повышением времени воздействия. Так как известно, что тирозин интенсивно флюоресцирует при денатурации белков [14], можно предположить, что излучение плазмы оказывает деструктивное действие на молекулу гемоглобина.

Для детализации процессов модификации



**Рис. 2.** Спектральные характеристики раствора триптофана в концентрации 0,05 мМ после воздействия излучением плазмы искрового разряда: а — при длине волны 190–260 нм; б — при длине волны 260–390 нм; \* — статистическая значимость различий значений по сравнению с контрольной необработанной серией,  $p < 0,05$

Таблица 1

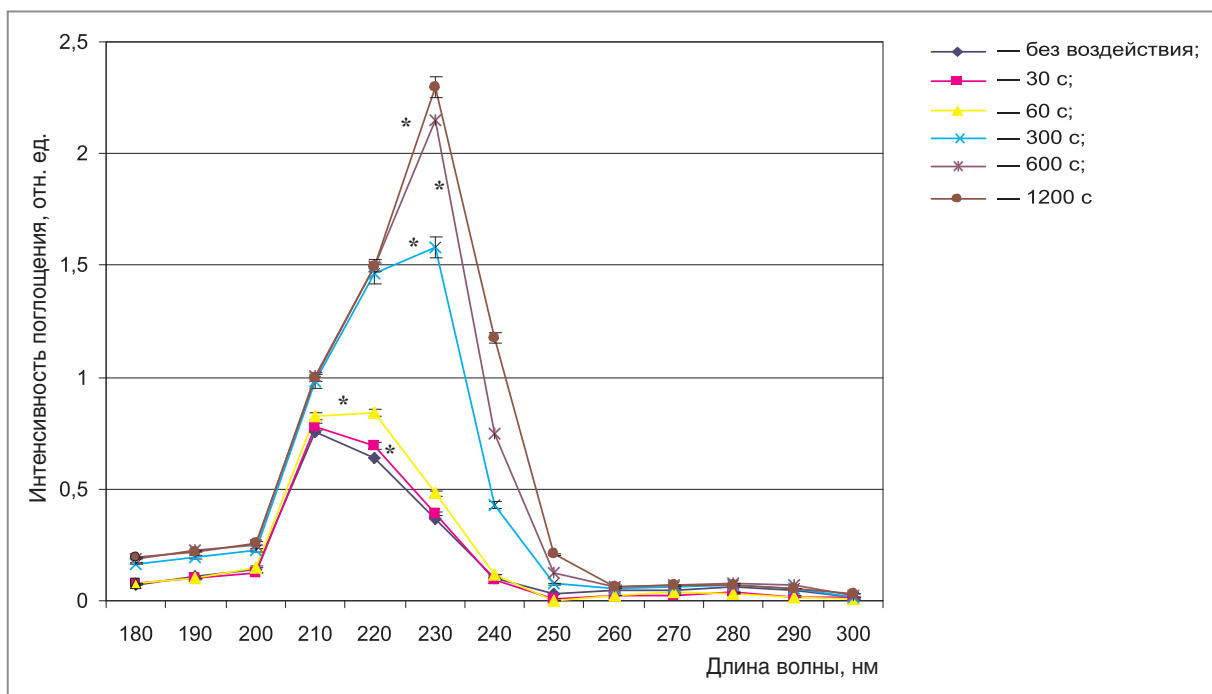
**Интенсивность флюоресценции триптофана и битиросина в растворах белков после воздействия излучением плазмы, отн. ед./мг белка**

Время воздействия, с	Раствор альбумина		Раствор гемоглобина	
	Триптофан	Битиросин	Триптофан	Битиросин
Без воздействия	2,10±0,02	0,050±0,001	0,120±0,006	0,030±0,006
30	1,710±0,004	0,050±0,008	0,130±0,001	0,053±0,002
60	1,760±0,001	0,060±0,004	0,150±0,003	0,066±0,003*
300	1,300±0,005*	0,060±0,002	0,130±0,004	0,060±0,001
600	1,035±0,003*	0,050±0,001	0,120±0,003	0,023±0,001
1200	0,530±0,001*	0,040±0,001	0,110±0,003	0,036±0,003

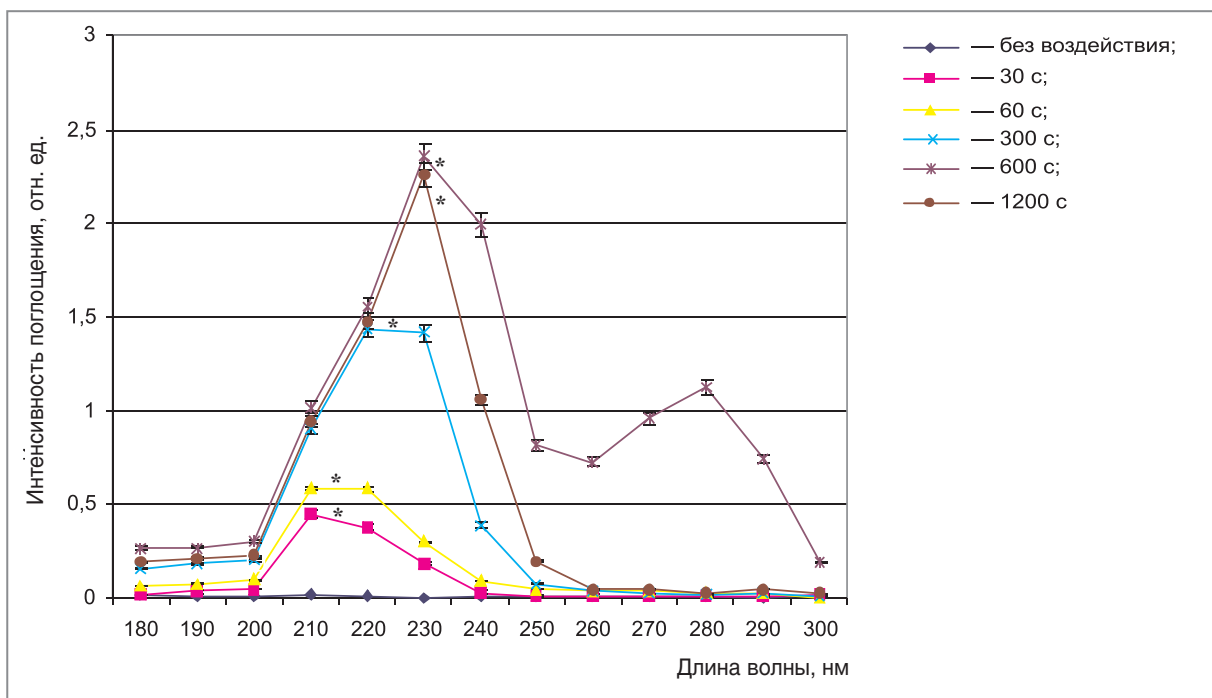
\* — статистическая значимость различий значений по сравнению с контрольной необработанной серией,  $p < 0,05$ .

белков под действием излучения газоразрядной плазмы проводили спектральный анализ растворов альбумина и гемоглобина. После обработки излучением плазмы выявлены максимумы поглощения на 210,

230, 280 нм как для альбумина, так и для гемоглобина (рис. 3, 4). Известно, в частности, что ди-производные SH-групп характеризуются максимумом поглощения на 210 нм [15]. Вероятно, одним из механизмов окис-



**Рис. 3.** Спектральные характеристики раствора альбумина в концентрации 0,05% после воздействия излучением газоразрядной плазмы; \* — статистическая значимость различий значений по сравнению с контрольной необработанной серией,  $p < 0,05$



**Рис. 4.** Спектральные характеристики раствора гемоглобина в концентрации 0,00014% после воздействия излучением плазмы искрового разряда; \* — статистическая значимость различий значений по сравнению с контрольной необработанной серией;  $p < 0,05$

лительной модификации белков под действием излучения плазмы является окисление SH-групп цистеина. Максимум поглощения в области 230 нм может быть обусловлен накоплением пероксидных группировок в молекулах белков. По данным [16], в области 280 нм происходит поглощение нитросоединениями (R-N-O<sub>2</sub>, O-NO<sub>2</sub>, N-NO<sub>2</sub>) и ассоциатами с нитрогруппами. В работе [1] доказано образование нитросоединений R-N-O<sub>2</sub> в жидкой фазе при генерации разряда. Таким образом, с ростом времени воздействия увеличивается структурная модификация альбумина и гемоглобина

за счет образования комплексов с нитрочастицами. Однако для раствора гемоглобина максимум накопления нитросоединений регистрируется в период времени 600 с, а с увеличением времени воздействия до 1200 с пик поглощения снижается до контрольных значений. Полученные данные согласуются с результатами работы [10], в которой указывается на снижение концентрации нитрозаминнов при длительных временах обработки.

Чаще всего физико-химическое состояние и спектральные свойства ароматических групп в белках клеток отличаются от соответствующих свойств растворов аминокислот и белков. Исследуя влияние излучения газоразрядной плазмы на эритроциты, имеющие высокий процент белков в своем составе, можно судить об уровне модификации белков в клетке (табл. 2).

Анализ уровня флюоресценции триптофана эритроцитов показал, что в эритроцитах животных с экспериментальной саркомой белки находятся в более окисленном состоянии, что согласуется с данными о повышенной свободнорадикальной активности в организме с неопластическим процессом [17].

После воздействия излучением плазмы на эритроциты животных с саркомой выявлено снижение уровня флюоресценции триптофана в 2 раза, а для эритроцитов интактных животных изменений не отмечено, что предположительно связано с более низким уровнем антиоксидантной активности в крови животных с экспериментальной опухолью [18].

При сравнении уровня флюоресценции битирозина необработанных эритроцитов интактных животных и животных с экспериментальной саркомой установлено, что в эритроцитах животных с опухолью уровень флюоресценции в 4 раза ниже, что может свидетельствовать о повреждении цитоскелета, в механической прочности которого большую роль играют именно битирозиновые шивки [19]. В организме с неопластическим процессом свободнорадикальная активность повышена [20], что обуславливает фрагментацию белков и регистрируется по снижению флюоресценции битирозиновых шивок [21].

После воздействия излучением плазмы на эритроциты интактных животных флюоресценция бити-

Т а б л и ц а 2

**Интенсивность флюоресценции битирозина и триптофана белков эритроцитов интактных животных и животных с саркомой после воздействия излучением плазмы, отн. ед./г/л**

Время воздействия, с	Эритроциты интактных животных		Эритроциты животных с саркомой	
	Битирозин	Триптофан	Битирозин	Триптофан
Без воздействия	0,915±0,115	3,074±0,029	0,210±0,001	1,200±0,023
30	1,120±0,232	2,820±0,0372	0,4000±0,0014	1,200±0,036
60	1,320±0,028	2,766±0,025	0,330±0,001	1,000±0,045
300	3,910±0,017*	3,1442±0,0160	1,060±0,007*	0,870±0,042
600	12,600±0,069*	2,977±0,024	2,500±0,001*	0,830±0,043
1200	15,95±0,09*	2,912±0,011	5,575±0,016*	0,650±0,046*

\* — статистическая значимость различий значений по сравнению с контрольной необработанной серией, p<0,05.

розина увеличивалась в 15 раз, а после воздействия на эритроциты животных с неопластическим процессом — в 26 раз. В независимых исследованиях Т. DiMarco, С. Giulivi, Л.Е. Муравлевой [22, 23] показано, что чаще всего увеличение флюоресценции битирозиновых шивок является следствием изменений в третичной и вторичной структурах белка. Таким образом, в результате воздействия излучением плазмы в белках эритроцитов идет интенсивное образование и накопление битирозиновых шивок, что может приводить к модификации третичной и вторичной структуры белков эритроцитов.

**Заключение.** Окислительная модификация молекул триптофана, альбумина и гемоглобина в растворах после воздействия излучением газоразрядной плазмы обусловлена образованием комплексов этих молекул с продуктами излучения плазмы — нитросоединениями, радикалами азота, гидропероксидными радикалами. Белковые структуры эритроцитов животных с экспериментальной саркомой находятся в более окисленном состоянии по сравнению с таковыми у интактных животных. Молекулы тирозина менее устойчивы к действию излучения плазмы, что определяет окислительную модификацию белков эритроцитов интактных животных и животных с экспериментальной саркомой. Воздействие излучением плазмы вызывает модификацию третичной и вторичной структуры белков эритроцитов, нарушает структуру цитоскелета и функциональную активность клетки в целом.

**Финансирование исследования и конфликт интересов.** Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

## Литература

1. Иванова И.П., Трофимова С.В., Карпель Вель Лейтнер Н., Аристова Н.А., Архипова Е.В., Бурхина О.Е., Сысоева В.А., Пискарев И.М. Анализ активных продуктов излучения плазмы искрового разряда, определяющих биологические эффекты в клетках. Современные технологии в медицине 2012; 2: 20–30.

2. Иванова И.П., Трофимова С.В., Пискарев И.М. Влияние излучения плазмы искрового разряда на модификацию белков и липидов. *Фундаментальные исследования* 2013; 1(3): 572–575.

3. Иванова И.П., Трофимова С.В., Пискарев И.М., Бурхина О.Е., Сысоева В.А., Карпель Вель Лейтнер Н. Исследование механизмов биоцидного действия излучения плазмы искрового разряда. *Современные технологии в медицине* 2012; 3: 12–18.

4. Иванова И.П., Трофимова С.В., Ведунова М.В., Жаберева А.С., Бугрова М.Л., Пискарев И.М., Карпель Вель Лейтнер Н. Оценка механизмов цитотоксического действия излучения газоразрядной плазмы. *Современные технологии в медицине* 2014; 6(1): 14–22.

5. Дубинина Е.Е., Гавровская С.В., Кузьмич Е.В., Леонова Н.В., Морозова М.Г., Ковругина С.В., Смирнова Т.А. Окислительная модификация белков: окисление триптофана и образование битиروزина в очищенных белках с использованием системы Фентона. *Биохимия* 2002; 67: 413–421.

6. Nixon J., Reshetnyak Y.K. Algorithm for the analysis of tryptophan fluorescence spectra and their correlation with protein structural parameters. *Algorithms* 2009; 2: 1155–1176, <http://dx.doi.org/10.3390/a2031155>.

7. Пентин Ю.А., Курамшина Г.М. Основы молекулярной спектроскопии. М: Мир; 2008; 398 с.

8. Никитина Л.Е., Племенков В.В. Физические методы идентификации органических соединений. Казань 2003; 92 с.

9. Мельников М.Я. Фотохимия пероксидных радикалов в твердой фазе и на активированной поверхности твердых тел. Вестник Московского университета. Химия 2001; 42(3): 188–193.

10. Пискарев И.М., Иванова И.П., Трофимова С.В., Аристова Н.А. Образование активных частиц при искровом электрическом разряде и их возможное использование. *Химия высоких энергий* 2012; 46(5): 406–411.

11. Ельяшевич М.А. Атомная и молекулярная спектроскопия. М: Эдиториал УРСС; 2001; 896 с.

12. Анисимова Н.А. Идентификация органических соединений. Горно-Алтайск: РИО ГАГУ; 2009; 95 с.

13. Quinlan G.J., Martin G.S., Evans T.W. Albumin: biochemical properties and therapeutic potential. *Hepatology* 2005; 41(6): 1211–1219.

14. Казакова В.В., Елкина Н.М. Окислительная модификация и изменения внутримолекулярной гидрофобности гемоглобина А при инкубации эритроцитов человека в среде Фентона. *Український біохімічний журнал* 2007; 79(4): 34–38.

15. Карнаухова Л.И., Тупицын Е.Н. УФ-спектроскопия биологических макромолекул. Саратов: СГУ; 2002.

16. Вязьмин С.Ю., Рябухин Д.С., Васильев А.В. Электронная спектроскопия органических соединений. СПб: СПбГЛТА; 2011.

17. Kroemer G., Pouyssegur J. Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. *Cancer Cell* 2008 Jun; 13(6): 472–482, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2008.05.005>.

18. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты. СПб: Медицинская пресса; 2006; 400 с.

19. Губский Ю.И., Беленичев И.Ф., Павлов С.В.

Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы). *Современные проблемы токсикологии* 2005; 3: 20–26.

20. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. Новосибирск: АРТА; 2008; 284 с.

21. Абаленихина Ю.В., Фомина М.А., Чурилов Г.И., Ивановичева Ю.Н. Окислительная модификация белков тимуса крыс под влиянием меди в ультрадисперсной форме. *Фундаментальные исследования* 2012; 11(6): 1315–1319.

22. DiMarco T., Giulivi C. Current analytical methods for the detection of dihydroxytyrosine, a biomarker of oxidative stress, in biological samples. *Mass Spectrom Rev* 2007; 26(1): 108–120, <http://dx.doi.org/10.1002/mas.20109>.

23. Муравлева Л.Е., Молотов-Луначарский В.Б., Клюев Д.А. Окислительная модификация белков — проблемы и перспективы исследования. *Фундаментальные исследования* 2010; 1: 74–78.

## References

1. Ivanova I.P., Trofimova S.V., Karpel Vel Leitner N., Aristova N.A., Arkhipova E.V., Burkhina O.E., Sysoeva V.A., Piskaryov I.M. The analysis of active products of spark discharge plasma radiation determining biological effects in tissues. *Sovremennyye tehnologii v medicine* 2012; 2: 20–30.

2. Ivanova I.P., Trofimova S.V., Piskaryov I.M. The influence of the spark discharge plasma radiation on protein's and lipid's modification. *Fundamentalnie issledovaniya* 2013; 1(3): 572–575.

3. Ivanova I.P., Trofimova S.V., Piskaryov I.M., Burkhina O.E., Sysoeva V.A., Karpel Vel Leitner N. The study of biocidal mechanisms of spark discharge plasma radiation. *Sovremennyye tehnologii v medicine* 2012; 3: 12–18.

4. Ivanova I.P., Trofimova S.V., Vedunova M.V., Zhabereva A.S., Bugrova M.L., Piskaryov I.M., Karpel Vel Leitner N. Assessment of cytotoxic effect mechanisms of gas-discharge plasma radiation. *Sovremennyye tehnologii v medicine* 2014; 6(1): 14–22.

5. Dubinina E.E., Gavrovskaya S.V., Kuz'mich E.V., Leonova N.V., Morozova M.G., Kovrugina S.V., Smirnova T.A. Oxidative protein modification: tryptophan oxidation and bityrosine formation in purified proteins using Fenton system. *Biokhimiya* 2002; 67: 413–421.

6. Nixon J., Reshetnyak Y.K. Algorithm for the analysis of tryptophan fluorescence spectra and their correlation with protein structural parameters. *Algorithms* 2009; 2: 1155–1176, <http://dx.doi.org/10.3390/a2031155>.

7. Pentin Yu.A., Kuramshina G.M. *Osnovy molekulyarnoy spektroskopii* [Basics of molecular spectroscopy]. Moscow: Mir; 2008; 398 p.

8. Nikitina L.E., Plemenkov V.V. *Fizicheskie metody identifikatsii organicheskikh soedineniy* [Physical methods of identification of organic compounds]. Kazan 2003; 92 p.

9. Mel'nikov M.Ya. Photochemistry of peroxide radicals in solid phase and on an activated surface of solid bodies. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Khimiya* 2001; 42(3): 188–193.

10. Piskaryov I.M., Ivanova I.P., Trofimova S.V., Aristova N.A. Formation of active particles in spark discharge and their possible application. *Khimiya vysokikh energiy* 2012; 46(5): 406–411.

11. El'yashevich M.A. *Atomnaya i molekulyarnaya*

*spektroskopiya* [Atomic and molecular spectroscopy]. Moscow: Editorial URSS; 2001; 896 p.

12. Anisimova N.A. *Identifikatsiya organicheskikh soedineniy* [The identification of organic compounds]. Gorno-Altaysk: RIO GAGU; 2009; 95 p.

13. Quinlan G.J., Martin G.S., Evans T.W. Albumin: biochemical properties and therapeutic potential. *Hepatology* 2005; 41(6): 1211–1219.

14. Kazakova V.V., Elkina N.M. Oxidative modifications of the changes of intramolecular hydrophobic property of hemoglobin A in human erythrocyte incubation in Fenton medium. *Ukrains'kiy biokhimichnyi zhurnal* 2007; 79(4): 34–38.

15. Karnaukhova L.I., Tupitsyn E.N. *UF-spektroskopiya biologicheskikh makromolekul* [UV spectroscopy of biological macromolecules]. Saratov: SGU; 2002.

16. Vyaz'min S.Yu., Ryabukhin D.S., Vasil'ev A.V. *Elektronnaya spektroskopiya organicheskikh soedineniy* [Electronic spectroscopy of organic compounds]. Saint Petersburg: SPbGLTA; 2011.

17. Kroemer G., Pouyssegur J. Tumor cell metabolism: cancer's Achilles' heel. *Cancer Cell* 2008 Jun; 13(6): 472–482, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2008.05.005>.

18. Dubinina E.E. *Produkty metabolizma kisloroda v*

*funktional'noy aktivnosti kletok (zhizn' i smert', sozidanie i razrushenie)*. *Fiziologicheskie i kliniko-biokhimicheskie aspekty* [Oxygen metabolism products in cell functional activity (life and death, creativeness and destruction). Physiological, clinical and biochemical aspects]. Saint Petersburg: Meditsinskaya pressa; 2006; 400 p.

19. Gubskiy Yu.I., Belenichev I.F., Pavlov S.V. Toxicological sequences of oxidative protein modification in various pathological conditions (Review). *Sovremennye problemy toksikologii* 2005; 3: 20–26.

20. Men'shchikova E.B. Okislitel'nyy stress: patologicheskie sostoyaniya i zabolevaniya [Oxidative stress: pathological conditions and diseases]. Novosibirsk: ARTA; 2008; 284 p.

21. Abalenikhina Y.V., Fomina M.A., Churilov G.I., Ivanycheva Y.N. Oxidative protein modification rats thymus under the influence of copper in ultrafine form. *Fundamentalnie issledovaniya* 2012; 11(6): 1315–1319.

22. DiMarco T., Giulivi C. Current analytical methods for the detection of dityrosine, a biomarker of oxidative stress, in biological samples. *Mass Spectrom Rev* 2007; 26(1): 108–120, <http://dx.doi.org/10.1002/mas.20109>.

23. Muravleva L.Ye., Molotov-Luchansky V.B., Klyuyev D.A., et al. Oxidative protein modification: problems and research prospects. *Fundamentalnie issledovaniya* 2010; 1: 74–78.