

자외선B파로 유도된 Hairless mouse 의 과산화지질 및 항산화효소활성도와 탄닌의 효과

이민경 · 이세윤* · 안형수 · 안령미**

동덕여자대학교 약학과, *동덕여자대학교 약학연구소, **동덕여자대학교 보건관리학과

Lipid Peroxidation and Antioxidase Activities on Hairless Mouse Induced by UVB Irradiation and Effects of Tannic acid

Min-Kyung Lee, Seh-Yoon Yi*, Hyung-Soo Ahn, Ryoung-Me Ahn**

College of Pharmacy, *Institute of Pharmacy, **College of Natural Science,
Dongduck Women's University, Seoul 136-714, Korea

ABSTRACT

Inhibitory effects of tannic acid on the lipid peroxidation induced by UVB were investigated. Tannic acid was administered either topically or orally for 3 days to hairless mice, which were previously irradiated with UVB, and inhibitory effects of tannic acid were measured. The UVB was found to cause skin erythema and hemolysis. When tannic acid was administered either topically or orally, hemolysis was decreased. After the skin was irradiated by UVB, the production of malondialdehyde was significantly decreased in erythrocyte and skin tissue, and the activities of SOD and catalase were significantly increased in plasma and skin tissue. In case of oral treatment, catalase activity was not significantly increased. The inhibitory effects of tannic acid on malondialdehyde production, SOD inhibition and catalase inhibition were more prominent in orally administered groups than in topically administered groups. However, the difference between two groups was not statistically significant. In conclusion, tannic acid decreased lipid peroxidation possibly by free radical scavenger action. The route of administrations, topical or oral, did not affect the antioxidative activity of tannic acid.

Keywords : UVB, hairless mouse, tannic acid, SOD, TBA, catalase, hemolysis

I. 서 론

적당량의 자외선 조사는 소독, 살균작용, 활성형 Vitamin D의 생합성, 구루병을 예방한다.¹⁾ 그러나 과량의 자외선은 피부노화(photoaging)^{2,3)}, 색소침착증,⁴⁾ 피부암,⁵⁾ 백내장 증가, 면역기능저하⁶⁾ 등 여러가지 유해작용을 한다. 특히, UVB량에 비례하여 표피 각질세포의 직접 손상이 유발되어 일광화상세포의 형성이 증가되고,⁵⁾ 표피각질세포의 손상으로 면역 및 염증 조절에 관여하는 세포활성물질(cytokine)의 분

비장해가 발생한다.³⁾ 또한 자외선은 살갓의 표피층에 작용하여, 급속한 sunburn(화상, 홍반)을 일으킨다.⁸⁾ 더 진행되면, 멜라닌 색소형성, 색소침착으로 sun tan이 일어나고, 각화이상, 각질층 중의 수분이 감소되어 DNA에 손상을 준다.^{9,10)}

자외선 폭로에 의한 생체방어 기구의 하나인 SOD (superoxide dismutase)가 자외선에 의해 생성된 superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$)을 H_2O_2 로 전환시키면 catalase는 세포에 무해한 물질인 물과 산소로 분해시킴으로써 세포의 지질 과산화를 억제하여 산화적인 손상을 예방한다.¹¹⁻¹²⁾

Tannic acid는 Green tea, 도토리, 울피, 수수등 비교적 자연계에 널리 분포하고 있으며,¹³⁾ 근래 탄

본 연구는 농림수산부 특정연구과제 연구비 지원으로 수행되었다.

닌의 약리효과에 대한 연구가 활발히 진행중에 있다. 현재까지 알려진 탄닌의 효과로는 항암효과¹⁴⁾와 NCF(neutrophil chemotactic factor)분비촉진,¹⁵⁾ 발암물질인 TPA(12-o-tetradecanoylphorbol-13-acetate)활성억제,¹⁶⁾ DNA 손상억제,¹⁷⁾ free radical을 scavenging 하므로써 과산화지질억제효과 및 항산화 효과를 가져오는 것으로 알려져 있다.¹⁸⁻²⁰⁾ 항암효과는 특히, 유방암과¹³⁾ 광에 의한 피부암에²¹⁻²²⁾ 더욱 효과적이며, TPA와 흡연으로 인해 유도된 DNA의 손상이 유의성있게 억제된다.²⁰⁾ Tannic acid와 유사한 유도체로는 gallic acid, digallic acid, epigallocatechin, epigallocatechin gallate, epicatechin gallate 등이 있다.¹⁴⁾

본 실험의 목적은 자외선에 의한 피부 손상을 탄닌산이 방어할 수 있는지 알아보기 위한 것이다. 자외선에 의한 손상은 TBA(Thiobarbituric acid) 및 적혈구의 hemolysis로 측정하고, 탄닌의 항산화효과는 SOD와 catalase 활성도로 측정하였다. 탄닌의 투여경로는 ointment형태와 경구투여로 나누어 투여경로의 효과도 또한 비교하였다.

II. 재료 및 방법

1. 시약 및 기기

Tannic acid(Digallic acid, MW 358, Fig.1), vaselin은 일본 약리 화학 공업 주식회사 제품을, SOD, Na-Xanthine, 1,1,3,3-tetramethoxypropane, KCN, Na-deoxycholate, ferricytochrome C(Type V-A: From Bovin Heart), Xanthine oxidase는 미국 Sigma사 제품을 사용하였으며, TCA, TBA와 일반시약은 일본 Junsei사 제품을 사용하였다.

Tannic acid를 이용하여 투여할 연고와 식수로 공급할 용액은 다음과 같은 방법으로 만들었다. 즉, 연고는 백색 vaselin을 사용하여, 5% tannic acid 연고로 조제하였으며, 식수에 섞을 용액은 500 mg/kg/

day로 섭취하게 매일 쥐의 음수량을 측정하여 tannic acid를 조제하여 식수로 투여하였다.

자외선조사장치는 UVB 램프(FL 15 UV320, NIS, 최대파장 312 nm)를 사용하여 자체 제작하였으며, 자외선량은 radiometer(6501-54 VLX-3W, France)를 사용하였다. homogenizer는 Ika사(독일), 흡광도 측정기는 timer와 recorder가 부착된 Perkin Elmer사 제품을 사용하였다.

2. 실험동물의 사육 및 자외선조사

실험 동물은 국립안전보건연구원에서 분양 받아 사육한 체중 30-35 g의 약 30주령된 암컷 hairless mouse(Skh:HR-1계)를 사용했으며, 4마리를 한 군으로 하였다.

정상쥐군을 "Normal 군"으로 표기하여 10일간 정상 사육하였으며, 자외선조사군을 대조군으로 하였다. 5% tannic acid ointment를 조제하여 등에 10일간 바른 군을 "Tannic acid ointment 처치군"이라고 하고, tannic acid를 10일간 음용한 군을 "Tannic acid 경구 투여군"이라고 표기하였다.

사육 7일째 "Normal"군을 제외한 나머지군은 등부 위만 노출되도록 고안된 cage에 넣은 후 자외선조사기에 cage를 넣고, UVB를 총 15 KJ/m²이 되도록 자외선을 조사시켰다. 자외선 조사후에도 계속 약물을 투여하였으며, 사육 10일째에 다음 실험으로 들어갔다.

자외선 조사후 3 일째에는 약물투여하고 30분경과후에 ether로 마취시킨 후, 피부를 채취하였다.

3. 채혈 및 피부 채취

자외선을 조사시킨 3일째에 hairless mouse에게 약물을 투여하고 30분후에 ether로 흡입 마취시켜 혈액을 복부 대정맥에서 채취하고 즉시 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리시켜 상등액과 혈구를 분리하여 각각 보관하였다. 또한 등부위의 피부를 떼어내어 saline물은 솜으로 지방과 근육을 제거하여 -40°C에 보관하였다.

4. 용혈 억제 실험

채혈한 후 즉시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 혈구를 과량 취해 saline으로 세척한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상등액을 버리는 조작을 2번 반복하여 순수한 혈구만을 분리하였다. 세척한 혈구중 30 μl을 취하여 8배의 PBS를 가하고, 37°C에서 incubation시켰다. 각각 2, 4,

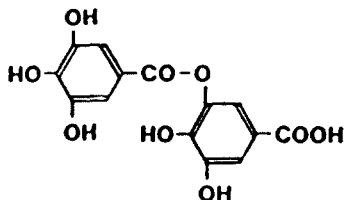


Fig. 1. Structural formula of Tannic acid named Digallic acid.

8시간 후에 꺼내어 3,000 rpm에서 15분간 원심분리 후 535 nm에서 흡광도를 측정하였다.²³⁾

5. 지질 과산화 및 항산화효소 실험

1) 시료조제

혈구는 세척한 혈구에 일정량의 증류수를 넣어 용혈시킨 후 원심분리하여 상등액을 취한 것을 사용하였고, 혈장은 혈액을 원심분리하여 얻은 상등액을 사용하였다. 또한 피부시료는 pH 7.8 인산염 buffer를 피부일정량에 가해 homogenization 을 한 후에 원심분리하여 상등액만을 취하여 시료액으로 하였다.

2) 시료측정

TBA측정은 Buege 등이²⁴⁾ 고안한 방법으로 535 nm spectrophotometer에서 malondialdehyde양을 측정하였으며, 표준액은 1,1,3,3-methoxypropane을 사용하였다.

SOD 는 McCold, Fridovich 등의 방법에²⁵⁾ 따라 SOR(superoxide radical)에 의하여 환원이 억제되는 cytochrome C양의 정도에 의하여 측정하였다. Superoxide Dismutase의 활성도는 cytochrome C의 환원속도를 50%억제하는 효소양을 1 Unit으로 하였다.

Catalase 활성 측정은 Aebi 등의²⁶⁾ 방법에 따라 측정하였다. 효소 활성도는 1분간 1 mole의 H₂O₂를 분해키는 효소의 양을 1 Unit로 하였다.

모든 시료에 포함되는 단백질 함량은 뷰렛법에 따라 측정하였으며 표준물질은 BSA(Bovine serum albumin)였다.

III. 결 과

1. 용혈 억제 효과

Normal군, control군, tannic acid ointment 처치군과 tannic acid 경구투여군의 자외선 조사에 대한 용혈억제효과는 Fig. 2와 같다.

2시간 배양시킨 실험에서 normal군은 자외선을 조사시킨 control군에 비해 유의성(p<0.05)있게 용혈억제효과가 있었으나, tannic acid ointment 처치군과 tannic acid 경구투여군은 약간의 용혈억제효과를 나타낼 뿐 유의성있는 차이는 없었다. 4시간 배양시킨 실험에서는 2시간때의 결과치와 유사하나, 각 그룹간의 유의성있는 용혈억제효과는 없었다. 8시간 배양시킨 실험에서는 control군에 비해 normal군이 유의성(p<0.01)있게 억제효과를 나타내었고, tannic acid ointment 처치군과 tannic acid 경

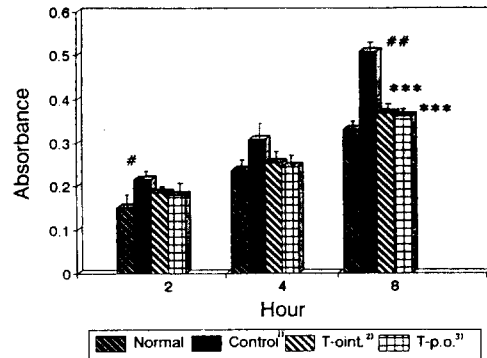


Fig. 2. Inhibitory effects of tannic acid on the hemolysis after 2, 4, 8 hours of incubation in the erythrocyte of hairless mouse by UVB irradiation. Results are expressed as a mean \pm S.E.M. (N=4)

***p<0.001: Significantly different from control.

*p<0.05, **p<0.01: Significantly different from normal.

¹⁾ Control group represents hairless mouse irradiated UVB (total 15 KJ/m²).

²⁾ Tannic acid ointment group was topically administered as 5% tannic acid ointment for 3 days after UVB irradiation and 7 days treatment before UVB irradiation.

³⁾ Tannic acid (p.o.) group was orally administered as a dose of 500 mg/kg/day for 3 days after UVB irradiation and 7 days treatment before UVB irradiation.

구투여군은 control군에 비해 유의성(p<0.001)있는 용혈억제효과를 나타내었다.

2. Malondialdehyde 생성 억제효과

Lipid peroxidation으로 생긴 malondialdehyde생성의 측정결과는 Table 1 과 같다. 즉 혈장의 경우 control군이 normal군에 비해 약간 증가하였으나, 각 군간에 유의성있는 차이를 나타내지 않았다.

적혈구에서는 control군이 normal군에 비해 유의성있는(p<0.001) 증가를 보였고, tannic acid ointment 처치군과 tannic acid 경구투여군은 control군에 비해 유의성(p<0.001)있는 감소를 보였다.

피부조직에서는 control군이 normal군에 비해 유의성(p<0.01)있는 증가를 보였다. Tannic acid ointment 처치군과 tannic acid 경구투여군은 control군에 비해 각각 유의성(p<0.001)있는 감소를 보였다.

Table 1. Inhibitory effects of tannic acid on UVB irradiation induced malondialdehyde production of plasma, erythrocyte and skin in hairless mouse (nmole malondialdehyde/mg protein)

Group	plasma	erythrocyte	skin
Normal	7.15±0.10	13.50±0.98	6.37±1.00
Control ¹⁾	8.09±0.12	30.76±0.96 ^{***}	11.57±4.75 ^{**}
Tannic acid ²⁾ (ointment)	7.80±0.13	15.12±1.05 ^{***}	6.91±1.35 ^{***}
Tannic acid ³⁾ (p.o.)	7.79±0.20	14.80±1.53 ^{***}	7.04±1.51 ^{***}

Results are expressed as a mean ± S.E.M.(N=4.)

^{***}p<0.001 : Significantly different from control.

^{**}p<0.01, ^{***}p<0.001 : Significantly different from normal.

¹⁾ Control group represents hairless mouse irradiated UVB(total 15 KJ/m²).

²⁾ Tannic acid ointment group was topically administered as 5% tannic acid ointment for 3 days after UVB irradiation and 7 days treatment before UVB irradiation.

³⁾ Tannic acid (p.o.) group was orally administered as a dose of 500 mg/kg/day for 3 days after UVB irradiation and 7 days treatment before UVB irradiation.

Table 2. Inhibitory effects of tannic acid on UVB irradiation induced the change of superoxide dismutase activity of plasma and skin in hairless mouse (unit/mg protein)

Group	plasma	skin
Normal	0.052±0.003	16.64±1.62
Control	0.030±0.002 ^{**}	9.63±0.66 ^{**}
Tannic acid (ointment)	0.044±0.009 [*]	14.41±0.84 ^{**}
Tannic acid (p.o.)	0.044±0.005 [*]	15.05±0.86 ^{**}

Results are expressed as a mean ± S.E.M.(N=4.)

^{*}p<0.05, ^{**}p<0.01 : Significantly different from control.

^{**}p<0.01 : Significantly different from normal.

3. Superoxide Dismutase 효소활성 억제효과

혈장의 SOD 활성 측정결과는 control군이 normal군에 비해 유의성있게(p<0.01) 감소했으며, tannic acid ointment 처치군과 tannic acid 경구 투여군은 control군에 비해 유의하게(p<0.05) 증가하였다.(Table 2)

피부조직의 SOD 활성 측정결과는 normal군에 비해 control군이 유의하게 (p<0.01) 감소했으며, tannic acid ointment 처치군과 tannic acid 경구투

Table 3. Inhibitory effects of tannic acid on UVB irradiation induced the change of catalase activity of plasma and skin in hairless mouse (unit/mg protein)

Group	plasma	skin
Normal	0.14±0.029	80.74±3.46
Control	0.01±0.001 [*]	19.08±0.93 ^{***}
Tannic acid (ointment)	0.02±0.001 [*]	25.08±1.74 [*]
Tannic acid (p.o.)	0.02±0.002	26.09±1.98 [*]

Results are expressed as a mean ± S.E.M.(N=4.)

^{*}p<0.05 : Significantly different from control.

^{*}p<0.05, ^{***}p<0.001 : Significantly different from normal.

여군은 control군에 비해 유의성(p<0.01)있게 증가하였다.

4. Catalase 효소활성 억제효과

혈장에서 catalase 활성은 normal군에 비해 control군이 유의성있는 감소(p<0.05)를 보였고, tannic acid ointment 처치군은 control군에 비해 유의성있는 증가(p<0.05)를 보였다. 그러나, tannic acid 경구투여군은 control군에 비해 유의성있는 차이가 없었다. 피부조직에서 catalase 활성은 control군이 normal군에 비해 유의성있는 감소(p<0.001)를 보였고, 약물처리군은 대조군에 비해 유의성있는 증가(p<0.05)를 보였다. (Table 3)

IV. 고 찰

혈액에 자외선을 조사시켜서 급성 폐렴을 치료하려는 시도도 있으나²⁷⁾, 자외선 특히 UVA 는 적혈구를 용혈시키고 과산화지질을 증가시키는 것으로 보고되어 있다²⁸⁾. 자외선에 의한 용혈은 연령이 증가할수록 증가되는데, Vit. E²⁹⁾, Fe⁺² 과 환원 glutathione(GSH) 에 의해 감소된다.³⁰⁾

적혈구를 8시간 배양시킨 결과를 보면, 자외선에 의해 유도된 free radical이 적혈구 세포질 조성에 산화를 일으켜, 세포구조가 손상됨으로써 용혈을 증가시키는 것으로 생각된다.²⁸⁾ 탄닌산 첨가군은 탄닌산이 자외선으로 생성된 활성산소를 소거함으로써 적혈구막의 과산화가 억제되어, 용혈이 억제되었다고 생각된다.

Upreti 등¹⁸⁾은 argemone oil 로 유도한 간의

지질과산화물을 방어할 수 있는 항산화제로 비타민, 탄닌등을 사용한 결과 NADPH 또는 FeSO₄/ADP-dependent가 지질 과산화를 효율적으로 방어할 수 있음을 보고하였고, Pelle 등³²⁾은 catechine 이 과산화지질을 감소시킬 수 있음을 보고하였다.

Hasegawa¹¹⁾ 등은 ICR mouse 에 UVB 조사후 경시적인 SOD 활성도를 관찰한 결과 간과 피부의 활성도에는 변화가 없었다고 보고하였고, Okada³³⁾는 SOD 는 일시적인 UVB 조사에 의해 활성이 저하되었다가, 만성 노출시에는 오히려 활성 산소에 의한 조직손상을 막는 방어기전이 활성화되어 SOD활성이 증가된다고 보고하였다. 또한 Pence 등¹⁶⁾은 hairless mouse 에 UVB 900 J/m² 을 일회 조사하여 자외선 조사후 72시간 까지 경시별로 SOD 활성도를 측정된 결과 자외선 조사군의 피부 SOD 활성도가 계속 감소한 것을 보고하였고, 자외선 조사후 24시간 까지는 피부의 catalase 활성도는 별 차이를 보이지 않다가 계속 감소하였음을 보고하였다. Moysan 등³⁴⁾은 건강한 사람에게 지중반은 섬유세포에 UVA를 180 kJ/m² 조사한 결과 SOD 는 변화가 없었으나 catalase 는 매우 심한 감소를 보였다고 보고하였고, Punnonen³⁵⁾은 사람 keratinocytes 에 자외선을 조사하면 catalase, SOD 활성도가 저해된다고 보고하였다.

이렇게 연구자 마다 자외선 조사시 과산화지질양과 항산화효소 활성도를 다르게 보고한 이유는 사용한 재료, 자외선의 종류, 자외선 농도 등이 각기 달랐기 때문이라고 생각한다. 본 실험의 결과 자외선의 조사 후 72시간 후에 피부, 혈장에서 지질과산화, SOD, catalase 활성도를 측정된 결과 SOD 와 catalase 활성도가 감소한 것은 자외선이 항산화효소를 만드는 DNA 합성을 저해하였고,³⁶⁾ Cu를 포함하는 SOD, Fe을 포함하는 catalase가 UVB에 의해 파괴되었기 때문이라고 생각한다.³⁷⁾

탄닌은 hydroxy bond가 여러개 있어, 활성 산소를 소거하거나 다른 물질과의 흡착능은 뛰어나나 체내 흡수가 어렵고 떫은 맛이 있어서 식용으로 이용되기는 한계가 있다. 그러나 탄닌은 독성이 적고,³⁸⁾ 자외선에 대한 항산화효과가 있으므로 체내 흡수가 용이하고, 또한 수렴작용이 적은 탄닌을 합성, 또는 자연계에서 검색할 수 있다면 안전한 항산화물질을 개발하여 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

IV. 결 론

본 실험에서는 hairless mouse에 UVB와 조사시 생성되는 지질과산화에 대해 tannic acid를 피부도포(5% 연고) 및 경구투여(500 mg/kg/day)로 각각 7일간 처치한 후 자외선 B 파를 조사시켜, 자외선에 의한 손상을 탄닌이 억제하는지를 조사하였다.

UVB와 조사시 정상군에 비해 피부에 발적이 초래되고, 적혈구의 용혈이 증가되며, 적혈구와 피부에서 malondialdehyde생성이 유의성있게 증가되고, 혈장과 피부의 SOD와 catalase 활성도는 유의성있게 억제되었다. Tannic acid onitment 처치군 및 tannic acid 경구투여군은 대조군에 비해 피부발적과 적혈구의 용혈이 감소되었고, 적혈구와 피부조직에서 malondialdehyde 생성이 유의성있게 감소되었고, SOD와 catalase활성이 대조군에 비해 혈장과 피부조직에서 증가하였다. Plasma경우, catalase 활성은 tannic acid 경구투여군이 control군에 비해 증가되기는 했으나, 유의성있는 차이는 없었다. tannic acid 경구투여군이 피부도포군에 비해 UVB에 의한 malondialdehyde생성, SOD과 catalase 활성감소등 피부독성 억제효과가 보다 컸으나, 유의성있는 차이는 없었다. 이상의 결과는 tannic acid가 free radical 제거작용에 의해 지질과산화 생성을 감소시키며, 경구 및 피부도포시 모두 유사하게 억제효과가 있음을 제시해 준다.

참고문헌

- 1) Fitzpatrick, T.B.: Trend in dermatology-Ozone depletion and dermatologist-Need we prepare for the consequences of a UVB "Holocaust" in next decades. *Dermatology*, Sober, A.J., Fitzpatrick, T.B., p 13. Mosby Year Book, St. Louis, 1990.
- 2) Lorraine, H.K.: Biochemical changes in hairless mouse skin collagen after chronic exposure to Ultraviolet-A radiation. *Photochem. photobiol.* **54**(2), 233, 1991.
- 3) Bissett, D.L.: *Wavelength dependence of histological, physical, and visible changes in chronically UV-irradiated hairless mouse skin.* *Photochem. Photobiol.* **50**, 763, 1989.
- 4) Kligman, L.H.: *Photoaging. Dermatology in General Medicine.* Fitzpatrick, T.B., Eisen, A.Z., Wolff, K., 3rd. Mc Graw-Hill Book Co, New York, 1987.
- 5) Kligman, L.H.: *Sunscreens prevent ultraviolet pho-*

- tocarcinogenesis*, *J. Am. Acad. Dermatol.*, **3**, 30, 1980.
- 6) Gange, R.W.: Acute effects of ultraviolet radiation in the skin., *Dermatology in General Medicine*. Fitzpatrick, T.B., Eisen, A.Z., Wolff, K., 3rd, . pp 1451. Mc Graw-Hill Book Co, New York, 1987.
 - 7) Aberer, W.: Ultraviolet light depletes surface markers of langerhans cells, *J. Invest. Dermatol.*, **76**(3), 202, 1981.
 - 8) Stingl, G.: Immunologic functions of Ia-bearing epidermal langerhans cells. *J. Immunol.*, **121**(5), 2005, 1978.
 - 9) Pathak, M.A.: Formation of thymine dimers in mammalian skin by ultraviolet radiation in vivo, *Photochem. Photobiol.*, **15**, 177, 1972.
 - 10) Hanwalt, P.C.: DNA repair in bacteria and mammalian cells, *Ann. Rev. Biochem.*, **48**, 783, 1979.
 - 11) Hasegawa T.: Changes in lipid peroxide levels and activity of reactive oxygen scavenging enzymes in skin, serum and liver following UVB irradiation in mice. *Life Sci.* **50**, 1893, 1992.
 - 12) Pence B.C.: Effects of single-dose ultraviolet radiation on skin superoxide dismutase, catalase, and xanthine oxidase in hairless mice, *J. Invest. Dermatol.*, **95**, 213, 1990.
 - 13) Gali, H.U.: Antitumor-promoting effects of galotannins extracted from various sources in mouse skin in vivo. *Anticancer Res.* **13**, 915, 1993.
 - 14) Horikawa, K.: Moderate inhibition of mutagenicity and carcinogenicity of benzo[a]pyrene, 1,6-d-nitropyrene and 3,9-dinitrofluoranthene by Chinese medicinal herbs., *Mutagenesis*, **9**, 523, 1994.
 - 15) Specks, U.: Comparison of neutrophil chemotactic factor release by human and rabbit alveolar macrophages in response to tannin exposure. *J. Lab. Clin. Med.*, **125**, 237, 1995.
 - 16) Pence B.C.: Murine epidermal xanthine oxidase activity: correlation with degree of hyperplasia induced by tumor promoters, *Cancer res.*, **47**, 6388, 1987.
 - 17) Ramanathan, L.: Inhibitory effects of some natural products on metal-induced lipid oxidation in cooked fish. *Biol. Trace. Elem. Res.*, **34**, 35, 1992.
 - 18) Upreti, K.K.: Role of antioxidants and scavengers on argemone oil-induced toxicity in rats. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **20**, 531, 1991.
 - 19) Srinivas, L.: DNA damages by smoke: protection by tumeric and other inhibitors of ROS. *Free Radic. Biol. Med.*, **11**, 277, 1991.
 - 20) Gensler, H.L.: Prevention of photocarcinogenesis and UV-induced immunosuppression in mice by topical tannic acid. *Nutr. Cancer.*, **22**, 121, 1994.
 - 21) Wolff, K.: Cellular interaction and skin the epidermis as an immune organ. *Triangle*, **26**, 139, 1987.
 - 22) Spangrude, G.J.: Alterations in lymphocyte homing patterns within mice exposed to ultraviolet radiation, *J. Immunol.*, **130**(6), 2974, 1983.
 - 23) Tsai, A.C.: Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activity in the liver of cholesterol fed rats, *J. Nutri.*, **105**, 94
 - 24) Buege, J.A.: Microsomal lipid peroxidation. *Method. Enzymol.*, **52**, 302, 1978.
 - 25) McCord, J.M.: Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocyte (homocuprein). *J. Biol. Chem.*, **244**, 6049, 1969.
 - 26) Aebi, H.: Catalase in vitro., *Meth. Enzymol.*, **105**, 121-125 (1984). 26. McCord, J.M. and Fridovich, I. Superoxide dismutase: An enzymic function for erythrocyte (homocuprein). *J. Biol. Chem.*, **244**, 6049, 1969.
 - 27) Iakovlev V.A., Vytrishchak V.V., Kharitonov M. A.: The mechanisms of the therapeutic action and the basis for the frequency of performing sessions of ultraviolet blood irradiation in treating acute pneumonia. 1, *Ter Arkh.* **66**(8). 39-42, 1994.
 - 28) Godar D.E., Thomas D.P., Miller S.A., Lee W.: Long-wavelength UVA radiation induces oxidative stress, cytoskeletal damage and hemolysis. *Photochem Photobiol.* Jun. **57**(6). P 1018, 1993.
 - 29) Paranich A.V., Sheikin V.I., Godoy E.H., Gutierrez Bustamante H.K.: Lipid peroxidation following ultraviolet irradiation of the blood and the protective action of tocopherol acetate (experimental research), *Vrach Delo.* May. (5). P 57, 1992.
 - 30) Potapenko Aya: Fe²⁺ ions and reduced glutathione-chemical activators of psoralen-sensitized photohaemolysis. *J Photochem Photobiol B.* Jan. **17**(1). P 69, 1993.
 - 31) Dennis K.J.: Production of malonaldehyde from squalene, a major skin surface lipid during UV-irradiation. *Photochem Photobiol.* May. **49**(5). P 711, 1989.
 - 32) Pelle E.: An in vitro model to test relative antioxidant potential: ultraviolet-induced lipid peroxidation in liposomes. *Arch Biochem Biophys.* Dec. **283**(2). P 234, 1990.
 - 33) Okada, K.: Time-dependent effect of chronic UV irradiation on superoxide dismutase and catalase activity in hairless mouse skin. *J. Dermatol. Sci.* **8**, 183, 1994.

- 34) Moysan A., Marquis I., Gaboriau F., Santus R., Dubertret L. : Morliere P. Ultraviolet A-induced lipid peroxidation and antioxidant defense systems in cultured human skin fibroblasts. *J. Invest Dermatol.* May. **100**(5). P 692, 1993.
- 35) Punnonen K. : Effects of ultraviolet A and B irradiation on lipid peroxidation and activity of the antioxidant enzymes in keratinocytes in culture. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* Feb. **8**(1). P 3, 1991.
- 36) Chevion M. : A site mechanisms for free radical induced biological damage : the essential role of redox-active transition metals. *Free Rad Biol Med* **5**, 27, 1988.
- 37) Parrish J.A. : Responses of skin to visible and ultraviolet radiation. In : Goldsmith LA(ed) . *Biochemistry and Physiology of the skin* , vol. 2. Oxford University Press, NY, 713, 1983.
- 38) Ogasawara H. : Subchronic oral toxicity study of tannic acid in F344 rats. *Eisei Shikenjo Hokoku.* 108. 84, 1990.