

2. Разводовский, Ю. Е. Потребление алкоголя и смертность от инсульта в Беларуси / Ю. Е. Разводовский // Вопросы наркологии. – 2009. – № 6. – С.82– 92.
3. Современные проблемы биохимии. Методы исследований / Е. В. Барковский [др.] – Минск: Вышэйшая школа, 2013. – 491 с.
4. Levels of Free Amino Acids and their Derivatives in the Brain Cortex of Rats During Unilateral Ischemia / Razvodovsky Y. E. [et al.] // Int J Neru & Beh. – 2017. – Vol.1, № 1. – P. 18–21
5. Maksimovich, N. Ye. Tolerance of hypoxic hypoxia in rats with cerebral ischemia treated by NO-synthase modulators / N. Ye. Maksimovich // Hypoxia medical. – 2004. – V.1-2. – P. 20–23.

ПЕРОКСИНИТРИТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ЛИКВОРЕ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПЕТРОФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Созарукова М. М.¹, Мельникова Е. К.², Проскурнина Е. В.²

¹*ФГБУН «Институт общей и неорганической химии
имени Н.С. Курнакова» РАН, Москва, Россия*

²*ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени
М.В. Ломоносова», Москва, Россия
S_MadinaM@bk.ru*

Актуальность. Пероксинитрит (ONOO^-) — чрезвычайно токсичный продукт взаимодействия *in vivo* супероксидного анион-радикала и NO, обладающий вазоконстрикторным действием. Избыточное образование пероксинитрита, предположительно, играет роль в злокачественной артериальной гипертензии, поэтому его определение в плазме крови и при состояниях, характеризующихся сосудистым спазмом, представляет важную задачу. Большинство методов количественного определения пероксинитрита в биологических образцах основано на его окислительных свойствах и включает измерение аналитического сигнала продуктов окисления ONOO^- тех или иных веществ. Разработаны методики хроматографического, электрохимического и спектроскопического определения ONOO^- , при этом особенно активно применяется флуоресцентная спектроскопия.

Цель исследования. Разработать методику определения ONOO^- методом флуоресцентной спектроскопии с использованием фолиевой

кислоты и применить данную методику к биологическим образцам – плазме крови здоровых доноров и пациентов с субарахноидальным кровоизлиянием.

Методы исследования. Пероксинитрит синтезировали по методике, описанной в [1]. Синтезированный образец хранили при -20°C. Определение ONOO⁻ проводили спектрофлуориметрическим методом, описанным в [1], с заменой барбиталового буферного раствора на трис-буферный раствор (рН 9,0). Было исследовано 3 образца плазмы крови практически здоровых доноров (3 мужчин в возрасте от 25 до 36 лет), 3 образца плазмы крови пациентов (1 мужчина и 2 женщин в возрасте от 47 до 54 лет) с субарахноидальным кровоизлиянием (САК), образец ликвора практически здорового донора (мужчина в возрасте 33 лет) и образец ликвора пациента с САК (мужчина в возрасте 37 лет). Кровь отбирали в стандартные вакутейнеры (стабилизатор – Li-гепарин).

Результаты и их обсуждение. В качестве аналитического сигнала использовали интенсивность флуоресценции при 460 нм ($\lambda_{\text{ex}} = 380$ нм). Градуировочная зависимость интенсивности аналитического сигнала от концентрации была линейной в диапазоне от 1 до 7 мкМ: $I_{\text{фл}} = (3,38 \pm 0,23) \times c(\text{ONOO}^-, \text{мкМ}) + (17,92 \pm 1,13)$, $r = 0,998$. Были подобраны условия пробоподготовки биологических образцов для регистрации соответствующих спектров флуоресценции. Оценено содержание ONOO⁻ в исследуемых образцах: для доноров – $1,23 \pm 0,07$ мкМ, для пациентов с САК (мужчина, женщина) – $1,21 \pm 0,03$ мкМ, для образца второй пациентки с САК – $0,85 \pm 0,04$ мкМ. Концентрация пероксинитрита в образцах ликвора составила для практически здорового донора – $0,92 \pm 0,04$ мкМ, для пациента с САК – $0,93 \pm 0,05$ мкМ.

Выводы. Адаптирована описанная в литературе методика определения содержания пероксинитрита спектрофлуориметрическим методом с заменой буферного раствора. Подобраны условия пробоподготовки – среда, концентрации рабочих растворов биологических образцов. Методика апробирована для анализа плазмы крови и ликвора практически здоровых доноров и пациентов с САК.

ЛИТЕРАТУРА

Huang, J.C.; A Novel Fluorescent Method for Determination of Peroxynitrite Using Folic Acid as a Probe / J. C. Huang, [et al] // Talanta. – 2007. – V. 72, № 4. – P. 1283-1287.