

УДК 611.018.54:577.336:546,214

**ПРОДУКЦІЯ СИНГЛЕТНОГО КИСЛОРОДА В ПЛАЗМЕ КРОВИ  
ПОД ДІЄЮ ОЗОНА**

*В.Д. Зинченко<sup>1</sup>, К.Н. Головина<sup>2</sup>, А.Н. Кириенко<sup>3</sup>, И.И. Топчий<sup>4</sup>*

<sup>1,2</sup>Інститут проблем криобиології і криомедицини НАН України, ул. [Переяславська, 23](#), г. Харків, 61039, Україна

<sup>3,4</sup>Інститут терапії ім. Л.Т. Малої АМН України, пр. Любови Малої (пр. Постышева), 2а, г. Харків, 61039, Україна

Методом хемілюмінесценції досліджували вызванню озонем продукцію активних форм кислорода (АФК) в плазмі крові різних видових форм – людини, кролика, барана, криси. В плазму крові, отриману центрифугуванням цільної крові при 800g в течение 10 мин, додавали динатриєву соль флуоресцеїна – уранин (УР), поміщали в кювету хемілюмінометра і вводили озонирований фізіологічний розчин (ОФР) з концентрацією розчиненого озона 6 – 7 мг/л. Хемілюмінесцентний відповідь системи уранин-плазма крові проявляється схожим образом для плазми різних видових форм і складається з двох частин – короткої інтенсивної вспішки, длящейся около 5 с і довгого післясвечення, спадающего в течение 20 – 30 мин. При повторном введенні ОФР післясвечення возобновляется. Таке же післясвечення под дією озона спостерігається в цільній крові присутствії УР. Однак, якщо в розчині УР присутствують отмытые от плазми еритроциты, то при введенні ОФР спостерігається тільки коротка вспішка ХЛ, а післясвечення не реєструється.

Коротка вспішка хемілюмінесценції може бути об'яснена окисленням молекули УР озонем. Ця вспішка спостерігається в відсутствії біологічного матеріала. Відомо, що флуоресцеїн, як і інші ксантенові фарбники, люмінесцирует в голубій частині спектра при окисленням озонем.

Для в'яснення природи другої частини хемілюмінесцентного відповіді системи на дію озона (послісвечення) були проведені додаткові дослідження.

В зразок, що містить УР і плазму крові після запуску при допомозі озона хемілюмінесцентної реакції вводили перекись водороду і сернокисле залізо.

Умови експерименту: в зразок, що містить 500 мкл розчину УР (100 мкМ) і 200 мкл плазми крові запустили хемілюмінесцентну реакцію додаванням 500 мкл ОФР (7 мг О<sub>3</sub>/л) і після виникнення післясвечення ввели 1 мл розчину 1 мМ Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> (1 мМ), через 2 мин ввели 1 мл розчину FeSO<sub>4</sub> (1 мМ).

Було встановлено, що перекись водороду не впливає на інтенсивність післясвечення і, ймовірно, не бере участя в реакціях, відповідальних за післясвечення.

При взаємодії перекиси водороду з іонами двохвалентного заліза продуцируються гідроксил-іони (реакція Фентона)



Відомо, що утворюючийся в реакції (1) гідроксил-радикал – дуже сильний окислювач. Якщо передположити, що післясвечення в описаних вище експериментах пов'язано з окисленням УР, то слідвало б очікувати, що після введення в зразок іонів Fe<sup>++</sup> інтенсивність післясвечення зросте, однак в експерименті цього не спостерігається.

Отримані результати дають підставу виключити участя гідроксил-радикала в

реакции послесвечения, как и перекиси водорода.

Известен ряд хемилюминесцентных систем, в которых свет излучается флуоресцеином, что связано с переносом энергии от других химически активных частиц, например, от синглетного кислорода от люминола, от сульфидов, причем сами молекулы флуоресцеина (или его производных) не претерпевают химических изменений.

Как показано выше, на интенсивность послесвечения в присутствии плазмы крови не влияют перекись водорода и гидроксил-радикал - АФК, способные вызывать окисление органических соединений. Это дает основания думать, что послесвечение не связано с излучением света молекулами УР в результате их окисления. Дополнительным аргументом служит то, что послесвечение возобновляется при повторном введении озона, откуда следует, что УР не был израсходован в ходе первого цикла хемилюминесцентной реакции. Таким образом, данные факты позволяют говорить о том, что послесвечение связано с переносом энергии на УР от других химически активных частиц.

Наиболее вероятным претендентом на роль такой химически активной частицы, по нашему мнению, может быть синглетный кислород, который образуется при реакциях озона с органическими молекулами.

Акцептором энергии от синглетного кислорода является дианион  $UR^{2-}$  :



Тушение послесвечения ионами двухвалентного железа происходит в результате прямого окисления  $Fe^{++}$  в реакции с  $O_3^-$ , протекающей одновременно с реакцией (1):



Однако, рассматривая такую схему развития послесвечения, следует учитывать, что взаимодействие озона с органическими веществами происходит очень быстро, поэтому реакция (2) возможна только в начальный момент после введения озона. Для объяснения длительного послесвечения следует предположить возможность запуска озоном других реакций, которые требуют дополнительных исследований.