

ИЗМЕНЕНИЯ В КИНЕТИКЕ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ ПЛАЗМЫ КАК МЕРА СИСТЕМНОГО ОКИСЛИТЕЛЬНОГО СТРЕССА В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА

© 2016 г. М.М. Созарукова, А.М. Полимова, Е.В. Проскурнина, Ю.А. Владимиров
Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова,
Москва, 119192, Ломоносовский просп., 31/5

E-mail: Sozarukovamsu@gmail.com

Поступила в редакцию 19.10.15 г.

Окислительный стресс является патогенетическим фактором многих заболеваний, поэтому контроль данного состояния важен для ранней диагностики и корректировки проводимой терапии. В работе проведена оценка антиоксидантного статуса плазмы крови, предложено использовать ряд параметров кинетической кривой хемилюминесценции для определения уровня окислительного стресса (латентный период $\tau_{\text{лат}}$ и прирост аналитического сигнала $\Delta I_{\text{ХЛ}}$) в системе 2,2'-азо-бис(2-амидинопропан)дигидрохлорид–люминол. Показано, что основными компонентами, ответственными за кинетику кривой хемилюминесценции, являются мочевиная кислота и альбумин. Под действием УФ-облучения сывороточный альбумин приводит к окислительной модификации пропорционально дозе облучения, при этом усиливаются антиоксидантные свойства. Изменения в кинетике хемилюминесценции плазмы предложены в качестве меры окислительного стресса в организме человека.

Ключевые слова: альбумин, окислительный стресс, окислительная модификация белков, плазма, хемилюминесценция.

Окислительный стресс (ОС) проявляется в процессах, происходящих вследствие нарушения баланса свободных радикалов и их активных метаболитов и антиоксидантной системы в пользу первых. Чрезмерное образование свободных радикалов ведет к повреждению важных биомолекул [1–4], что в дальнейшем пагубно отражается на работе всего организма. Окислительный стресс является патогенетическим фактором многих заболеваний, в настоящее время участие свободных радикалов показано в этиопатогенезе более чем 200 заболеваний и патологических состояний, среди которых поражения сердечно-сосудистой системы (кардиомиопатии, атеросклероз, ишемическая болезнь сердца, гемохроматоз, гранулематоз Вегенера), желудочно-кишечного тракта (повреждения печени эндотоксином, хинонами, железом, ацетаминифеном, гепатит В, язвы желудка и двенадцатиперстной кишки), нейродегенеративные нарушения (болезни Паркинсона, Альцгеймера, Верднига–Хофмана, эпилепсия, шизофрения), а также болезни, связанные с нарушением мета-

болизма (амилоидоз коллагенопатии, диабеты) [5]. Контроль данного состояния, которое проявляется в образовании избыточного количества свободных радикалов и в последующих изменениях в организме человека, представляет интерес для исследования и является важным для решения таких диагностических задач, как определение риска возникновения заболеваний, их ранней диагностики и оценки эффективности терапии.

В литературе встречаются многочисленные описания методов и приближений, позволяющие оценить уровень окислительного стресса: волюмометрический метод [6,7], электрохимические методы [8,9], фотометрические методы (колориметрические методы, среди которых Total antioxidant capacity (TAC) – общая антиоксидантная активность [9], использование системы ABTS/H₂O₂/пероксидаза хрена [10], Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) [11]), спектрофотометрические методы (методы анализа, основанные на определении продуктов окисления дезоксирибозы [9], образовании окрашенных железо-тиоцианатных комплексов [12], скорости окисления радикала [13], продуктов окисления липосом [14], комплекса железа с трипиридилтриазином (Ferric-reducing antioxidant power, FRAP) [9], светочувствительные хеми-

Сокращения: ОС – окислительный стресс, ХЛ – хемилюминесценция, АБАП – 2,2'-азо-бис(2-амидинопропан)дигидрохлорид, САЧ – сывороточный альбумин человека.

люминесцентные методы (определение общего антиоксидантного потенциала [15–18] – TRAP (Total Radical-trapping Potential) и TAR (Total antioxidant reactivity), флуориметрические методы (измерение адсорбционной емкости по отношению к кислородным радикалам – Oxygen radical absorption capacity (ORAC) [19], метод Гуо и Янга [20]).

Окислительный стресс сопровождается ряд заболеваний, на разных этапах существует возможность влиять на данный сложный процесс. Влияние осуществляется, с одной стороны, за счет проведения антиоксидантной терапии, приводящей к уменьшению уровня окислительного стресса. С другой стороны, действие основано на противоположном эффекте: стимуляции свободнорадикальных реакций. Существуют два способа биофизического воздействия с целью активации окислительного стресса в терапии крови – лазерное и ультрафиолетовое облучение. Наиболее удобным (возможность дозирования) и доступным для моделирования окислительного стресса является метод УФ-воздействия (физическая модель окислительного стресса [21]). Механизм действия облученной крови на человека сложен и многообразен. До сих пор нет единой теории о влиянии УФ-излучения на организм человека. Отдельные области по-разному влияют на физиологические реакции тканей и целостного организма. УФ-излучение с длиной волн 280–400 нм в большей степени стимулирует выработку антител, фагоцитоз, накопление агглютининов крови; 340 нм – пигментообразование; 297–302 нм – эритемообразование; 280–310 нм – синтез витамина D. УФ-излучение с длиной волн 280 и 260–265 нм максимально поглощается белками, что приводит к их денатурации. УФ-излучение с длиной волн 180–280 нм оказывает бактерицидное действие, максимальное при длине волн 254 нм.

Действию окислительного стресса подвергается весь организм, но самым удобным и доступным для клинического анализа объектом исследования является плазма крови, обладающая мощным антиоксидантным потенциалом. Широкое распространение получил подход измерения общей антиоксидантной емкости крови хемилюминесцентным методом. Анализ полученных хемилюминесцентных кривых позволяет определять либо активность определенных слабых антиоксидантных (метод TAR), либо активность сильных антиоксидантных систем (метод TRAP) [17,22,23].

Однако применение ХЛ-метода для изучения плазмы крови сталкивается с определенными трудностями, так как зависимость кинетики

развития интенсивности хемилюминесценции (ХЛ) от времени более сложная, чем это принято считать. Происходит ряд изменений кривой ХЛ. На первом этапе это связано с угнетением свечения хемилюминесценции (появлением латентного периода), а на следующем – с усилением аналитического сигнала. В работах, направленных на определение антиоксидантной активности плазмы крови при разных патологиях, были получены аналогичные изменения в кинетике кривых ХЛ [24]. Однако остается до конца невыясненной природа этих событий. Настоящее исследование ставило целью изучение кинетики кривых и поиск возможных параметров для оценки ОС-статуса организма, имеющих клиническую значимость.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Хемилюминесцентные измерения. Работу выполняли на хемилюминометре «Lum-5773» («ДИСофт», Россия) в термостатированных условиях при 37°C. Для сопряжения компьютера и хемилюминометра использовали оригинальный программный продукт PowerGraph 3.3 (www.powergraph.ru). Для оценки антиоксидантной активности использована методика люминол-активированной ХЛ [20] с небольшими изменениями. Кратко, 50 мкл 0,05 М водного раствора АБАП (2,2'-азо-бис(2-амидинопропан)дигидрохлорид, «Fluka», Германия) и 20 мкл 0,1 мМ люминола (5-амино-1,2,3,4-тетрагидро-1,4-фталазиндион, «Fluka», Германия) в 100 мМ фосфатного буфера (рН 7,4) предварительно инкубировали в течение 20 мин при комнатной температуре в темноте. Реакцию терморазложения источника радикалов инициировали добавлением необходимого объема предварительно нагретого фосфатного буфера (37°C). Основной особенностью модифицированной методики стал ввод в систему исследуемого образца после выхода аналитического сигнала на плато. В контрольном эксперименте регистрировали хемилюминесценцию системы, содержащей АБАП/люминол. Ранее было показано, что внесение фосфатного буфера вместо аликвоты исследуемого образца не влияло на ход кривой. Объем системы составлял 1,0 мл. Образцы плазмы хранили при –20°C, непосредственно перед исследованием разбавляли в дистиллированной воде. Конечное разбавление плазмы от исходного составляло 1000 раз.

Облучение образцов. Для моделирования окислительного стресса использовали прибор УФ-излучения Bio-Link (Vilber Lourmat, Франция), позволяющий проводить дозирующее воздействие, с эффективной длиной коротковол-

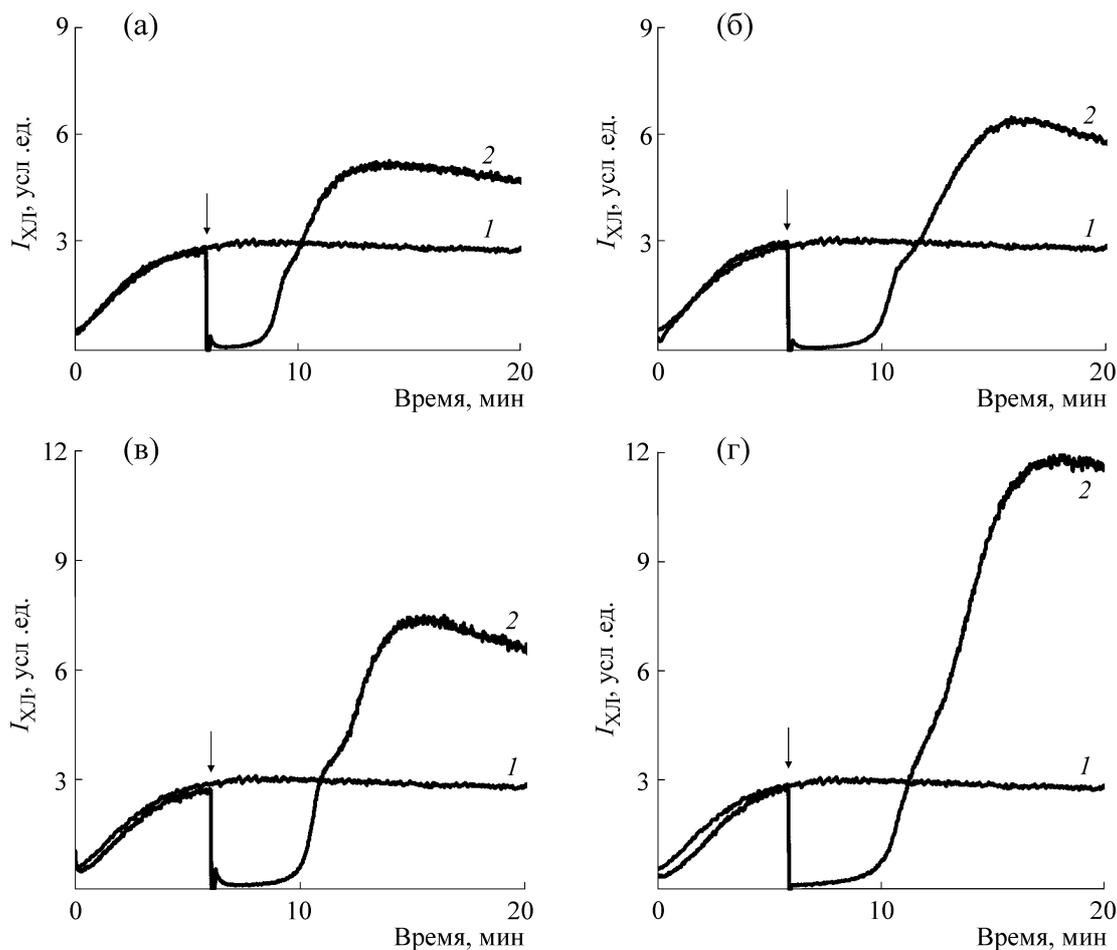


Рис. 1. Кривые хемилюминесценции плазмы крови условно здорового пациента (а) и пациентов с различными заболеваниями: болезнь Паркинсона (б), диабет 2-го типа (в), гранулематоз Вегенера (г): кривая 1 – контроль, кривая 2 – опыт. Стрелкой указан момент добавления аликвоты плазмы.

нового излучения 254 нм. Облучению подвергали 1 мл раствора белка с концентрацией 6,6 мкМ в фосфатном буфере в кварцевых кюветках. Концентрация раствора была подобрана таким образом, чтобы оптическая плотность не превышала 0,2 (были зарегистрированы соответствующие спектры поглощения, данные не приведены) преимущественно в области 254 нм (эффективная длина волны используемого УФ). Это обеспечивало равномерное действие коротковолнового излучения на весь объем.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Были исследованы образцы плазмы крови условно здоровых пациентов и пациентов с различными заболеваниями, в патогенезе которых проявляется окислительный стресс: болезнь Паркинсона, диабет 2-го типа, гранулематоз Вегенера (рис. 1). Все кривые ХЛ различаются между собой продолжительностью латентного

периода, величиной прироста ХЛ и соотношением между этими величинами. С целью выяснения причин этих различий были введены основные параметры, которые могут послужить количественными характеристиками изменений.

Проведенный анализ кривой хемилюминесценции (рис. 2) показал, что первая ее часть (до добавления исследуемого образца) характеризуется нарастанием свечения с последующим выходом ХЛ на плато. Это обусловлено образованием свободных радикалов и стационарным характером скорости их образования в результате термолитического разложения АБАП. Данная часть кривой задается и определяется только используемой системой. Вторая часть кривой имеет двухфазный характер изменения ХЛ после введения плазмы крови в систему (действие плазмы). Фаза 1 – это подавление свечения, представляющее латентный период ($\tau_{лат}$). На следующем этапе наблюдается продолжение развития ХЛ – фаза 2, при этом

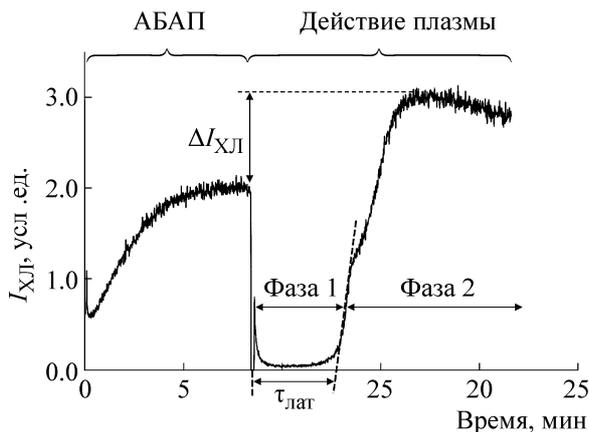


Рис. 2. Анализ кинетики хемилюминесценции кривой в системе АБАП/люминол при добавлении аликвоты плазмы крови: область действия АБАП, область действия плазмы. Область действия плазмы можно разделить на две фазы: фаза 1 – область подавления хемилюминесценции, фаза 2 – область дальнейшего развития хемилюминесценции после ингибирования свечения. Введены параметры кривой ХЛ: латентный период ($\tau_{\text{лат}}$), прирост ХЛ ($\Delta I_{\text{ХЛ}}$).

свечение превышало исходный уровень плато ($\Delta I_{\text{ХЛ}}$). Важно отметить, что эти две фазы проявляются всегда вне зависимости от патологии. Как известно, первый эффект свидетельствует о наличии антиоксидантных свойств плазмы крови, а природа второго эффекта до конца не выяснена.

Для понимания природы возникновения первой и второй фаз было изучено действие индивидуальных компонентов плазмы. Антиоксидантный потенциал плазмы обусловлен суммарным действием таких основных элементов (рис. 3а), как низкомолекулярные антиоксиданты – мочевины, аскорбиновая, мочевая кислоты и альбумин, который может находиться в разных состояниях. Таким образом, следующим шагом было изучение действия этих основных компонентов на развитие хемилюминесценции, содержание данных компонентов было смоделировано согласно результатам биохимического анализа плазмы крови пациента К. с диагностированным гранулематозом Вегенера.

Установлено, что мочевины существенного влияния на ход кривой ХЛ не оказывают (рис. 3б). Аскорбиновая кислота считается сильным антиоксидантом. Однако в модельных экспериментах ввиду ее малого содержания наблюдали кратковременный латентный период (менее минуты) (рис. 3в), тогда как в случае с плазмой фаза 1 составила 5 мин. Следовательно, можно сделать вывод о том, что аскорбиновая кислота, содержащаяся в норме, практически

не вносит вклад в антиоксидантные свойства плазмы. Мочевая кислота является результатом катаболизма пуринов, представляет собой эффективный акцептором ОН-радикалов и синглетного кислорода [21]. В модельных экспериментах добавление мочевой кислоты, благодаря ее относительно высокому содержанию (0,2–0,45 мМ – в норме в плазме), приводило к появлению значительного латентного периода – 5 мин. После израсходования антиоксиданта свечение восстанавливалось до уровня контрольного опыта (рис. 3г). Время фазы 1 для данного вещества практически совпадает с латентным временем для плазмы, поэтому можно сделать вывод о том, что мочевая кислота вносит основной вклад в антиоксидантные свойства плазмы крови. Альбумин обладает небольшой антиоксидантной емкостью. Об этом свидетельствует снижение хемилюминесценции в первый момент времени и отсутствие как такового в классическом понимании латентного периода (рис. 3д, 4). Кроме того, последующее развитие ХЛ превышает уровень контроля, которое не дают другие компоненты плазмы крови. Таким образом, основной вклад в характер развития ХЛ плазмы вносят мочевая кислота и сывороточный альбумин человека (САЧ).

Представляет интерес исследовать влияние на кинетику хемилюминесценции вышеобозначенных компонентов – мочевой кислоты и САЧ. Серия экспериментов, посвященных изучению действия различных концентраций мочевой кислоты, показала, что чем выше концентрация, тем больше латентное время (данные не представлены). Это отражает работу классического сильного антиоксиданта.

Далее переходим к сывороточному альбумину (рис. 4). Стоит отметить, что интенсивность хемилюминесценции снижалась вдвое по сравнению с исходным уровнем сразу после добавления альбумина для исследуемого диапазона концентраций (0,015–0,06 мг/мл). Выяснено, что чем выше содержание САЧ в системе, тем выше прирост ($\Delta I_{\text{ХЛ}}$). Величину 0,015 мг/мл можно определить, как пороговую, так как при добавлении меньшего количества белка происходило изменение кинетики ХЛ. С одной стороны, на начальном этапе интенсивность свечения снижалась на одну четвертую часть от исходного уровня, с другой стороны – выходила на стационарное свечение, уровень которого ниже контрольного.

Возможно, что первоначальное снижение хемилюминесценции связано с тем, что сывороточный альбумин человека адсорбирует полностью какой-то компонент системы АБАП/люминол. Последующий же прирост можно отне-

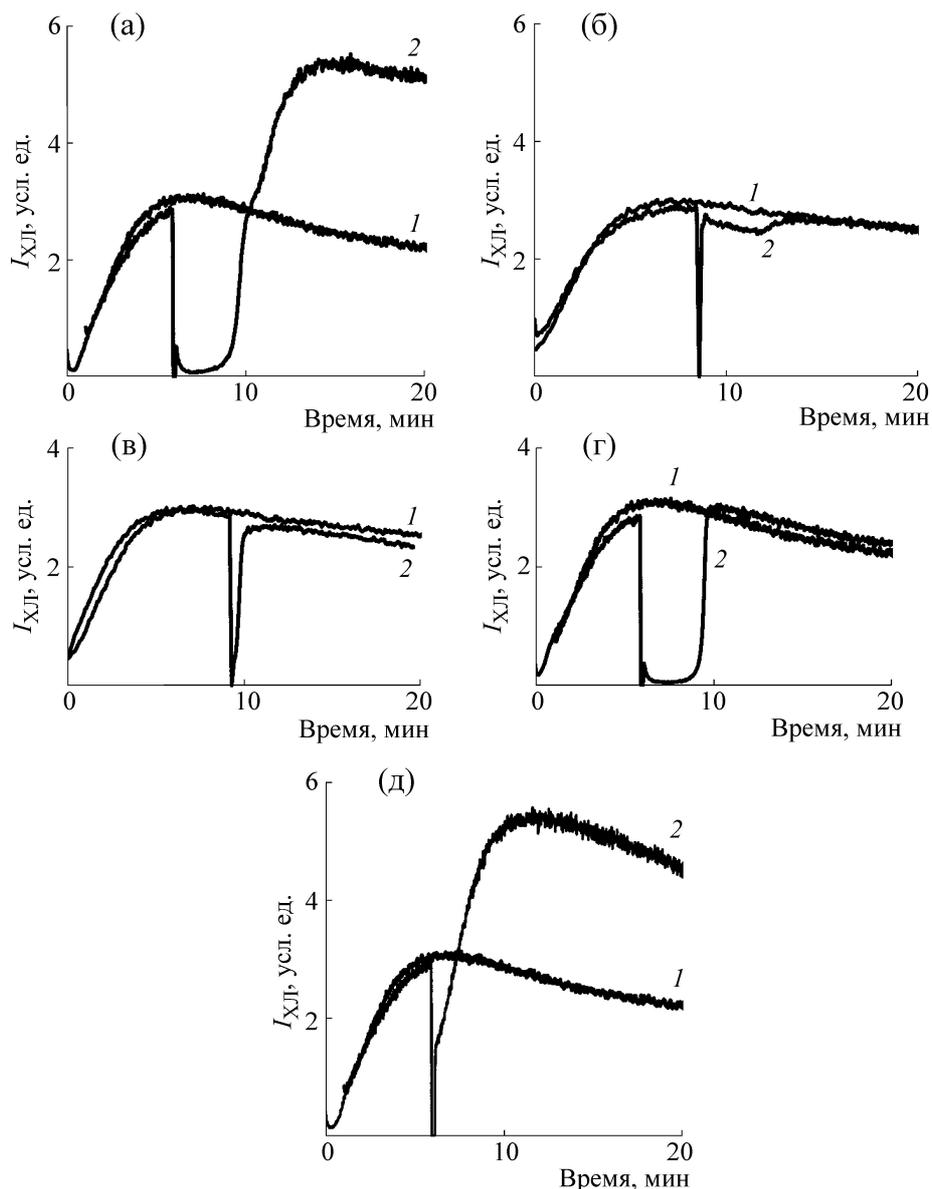


Рис. 3. Кривые хемилюминесценции системы АБАП/люминол в фосфатном буфере при добавлении плазмы (а) и ее индивидуальных компонентов: (б) – мочевины (4,7 мкмоль/л), (в) – аскорбиновая кислота (0,01 мг/л), (г) – мочевая кислота (0,331 мкмоль/л), (д) – альбумин (0,038 г/л). Кривая 1 – контроль, кривая 2 – опыт. Конечные концентрации соответствуют содержанию веществ, согласно результатам биохимического анализа, в исследуемом образце крови пациента К. с диагностированным гранулематозом Вегенера.

сти к увеличению квантового выхода в результате накопления вещества, которое может выступать в качестве дополнительного активатора хемилюминесценции.

При добавлении в систему АБАП/люминол компонентов плазмы происходил перехват радикалов – снижение ХЛ, а последующее взаимодействие с ними вызывало образование продуктов окисления, что не влияло на характер развития ХЛ для исследованных мочевины, аскорбиновой и мочевой кислот. В случае с альбумином изменения очевидны (рис. 3д).

Факторы, вызывающие окислительный стресс, различны, но все они в конечном счете приводят к окислительной модификации макромолекул, среди которых представлены белки. Проблема окислительной модификации белков в настоящее время весьма актуальна: ведется поиск белков, наиболее подверженных окислительной модификации, выявление путей целевой деградации этих макромолекул преимущественно с началом запуска патологических изменений в организме, степень ответственности каждого из них за прогрессирование хронических

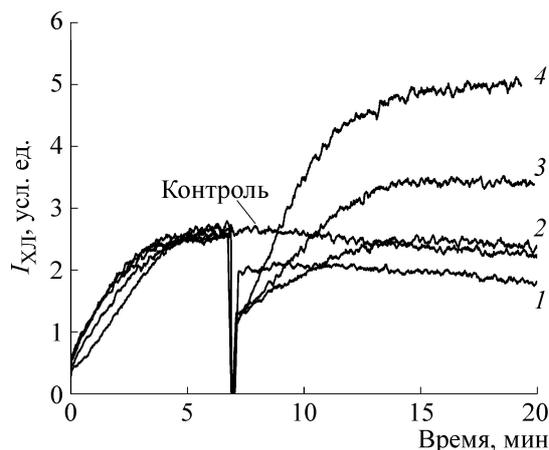


Рис. 4. Кинетика развития хемилюминесценции в системе АБАП/люцинол при разных концентрациях САЧ: 1 – 0,006, 2 – 0,015, 3 – 0,03, 4 – 0,06 мг/мл.

заболеваний. Ответы на эти вопросы расширяют понимание механизмов развития наиболее распространенных болезней человека и позволяют сформировать новые подходы к лечению.

Из литературы известно, что одним из основных белков крови, принимающим «удары» со стороны свободных радикалов на себя, является альбумин [22]. Использование его в качестве маркера окислительного стресса представляется целесообразным по следующим причинам: 1) постоянство состава при патологиях разного генеза, 2) альбумин содержится в доступном для клинического анализа образце – плазме крови. Исходя из этого, задачей следующей серии экспериментов ставилось обнаружение изменений в САЧ, происходящих под действием свободных радикалов и отражающиеся на его люминесцентных свойствах.

Было исследовано действие на альбумин коротковолнового излучения как физической модели окислительного стресса (рис. 5). Из полученных экспериментальных кривых развития хемилюминесценции САЧ наблюдали два эффекта: во-первых, при воздействии даже очень малой дозы ультрафиолетового облучения (0,050 Дж/см², кривая 1) происходило усиление антиоксидантных свойств белка. Следствием данных событий является наблюдаемое тушение хемилюминесценции (появление латентного периода, ($\tau_{\text{лат}}$)). Во-вторых, у кривой ХЛ после стадии «провала» наблюдался заметный прирост свечения ($\Delta I_{\text{ХЛ}}$), который быстро выходил на плато и сохранялся на относительно постоянном уровне с ростом дозы воздействия ультрафиолетового облучения, в то время как площадь под кривой при этом увеличивалась. На врезке показана зависимость антиоксидантной

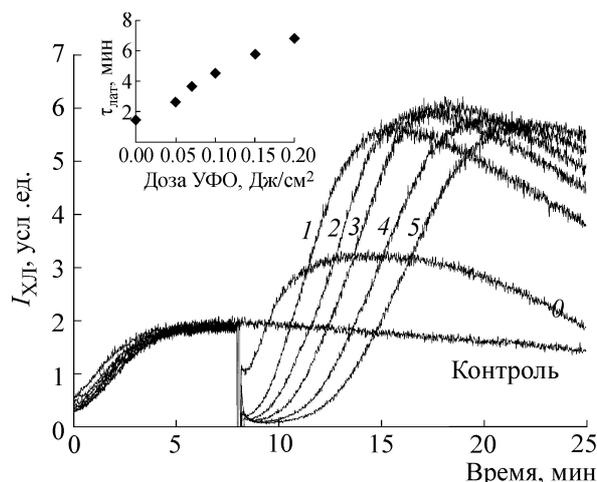


Рис. 5. Кинетика развития хемилюминесценции в системе АБАП/люцинол и САЧ (0,66 мкМ), на который действовали разными дозами коротковолнового излучения (Дж/см²): 1 – 0,050, 2 – 0,070, 3 – 0,100, 4 – 0,150, 5 – 0,200. На врезке показана зависимость латентного периода ($\tau_{\text{лат}}$) от дозы облучения.

активности латентного периода в минутах от дозы ультрафиолетового облучения. Данные изменения демонстрируют появление дополнительной антиоксидантной активности белка с ростом его окислительной модификации.

Одними из основных мишеней действия свободных радикалов в альбумине являются ароматические аминокислоты, тирозин и триптофан. Выявленные у белка антиоксидантные свойства, прирост свечения можно связать с образованием продуктов окисления этих аминокислот. Аналогичные эффекты были получены при исследовании индивидуальных тирозина и триптофана [25]. Одним из возможных продуктов окислительной модификации альбумина является производное аминокислоты L-ДОФА. Таким образом, из сказанного можно сделать вывод, что альбумин при воздействии малых доз ультрафиолетового облучения подвергается окислительной модификации. По мере увеличения дозы антиоксидантные свойства (латентный период, являющийся более чувствительным параметром) усиливаются, а прирост свечения быстро выходит на плато и сохраняется на относительно постоянном уровне.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе были проведены качественный и полуколичественный анализы кинетики хемилюминесценции плазмы. Было исследовано влияние основных компонентов на ход кривой ХЛ и их вклад в общую антиоксидант-

ную емкость плазмы. Показали, что при заболеваниях, довольно различных по своему происхождению, в плазме наблюдаются изменения, связанные с окислительным стрессом. Продемонстрирован двухфазный характер кривой ХЛ (на первой стадии – тушение ХЛ, на второй – усиление аналитического сигнала), а также тот факт, что соотношение между этими фазами меняется в зависимости от патологии (болезнь Паркинсона, сахарный диабет 2-го типа, гранулематоз Вегенера). Введены параметры, отражающие эти две фазы: латентный период ($\tau_{\text{лат}}$) и прирост свечения ($\Delta I_{\text{ХЛ}}$). Выяснено, что ответственной за фазу «провала» на кривой является мочевиная кислота, а также в некоторой степени окисленный альбумин. Фаза нарастания связана исключительно с действием САЧ; мочевиная существенного влияния на хемилюминесценцию не оказывает; действие аскорбиновой кислоты по характеру своему аналогично действию мочевины. Более детально изучено действие САЧ на кинетику в разных концентрациях, найдены пороговые значения, меняющиеся существенно ход развития ХЛ. Исследованы изменения, происходящие с САЧ при модельном окислительном стрессе и их влияние на его люминесцентные свойства. Оказалось, что при действии ультрафиолетового облучения в малых дозах у белка появляется антиоксидантная активность, которая ему была присуща исходно, однако она усиливается. Кроме того, происходит рост интенсивности ХЛ, быстро выходящий на плато и сохраняющийся на относительно постоянном уровне. Одним из результатов действия окислительного стресса на белок является появление продуктов окисления остатков ароматических аминокислот. Латентный период и прирост свечения являются мерой окислительного стресса. С их помощью можно оценить окислительный стресс на количественном уровне.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-15-00375).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. M. Dizdaroglu and P. Jaruga, *Free Radic. Res.* **46** (4), 382 (2012).
2. A. Catala, *Chem. Phys. Lipids* **157** (1), 1 (2009).
3. E. R. Stadtman, *Free Radic. Res.* **40** (12), 1250 (2006).
4. R. Widmer, I. Ziaja, and T. Grune, *Free Radic. Res.* **40** (12), 1259 (2006).
5. Е. Б. Меньщикова, Н. К. Зенков, В. З. Ланкин и др., *Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания* (АРТА, Новосибирск, 2008).
6. C. Rekha, G. Poornima, and M. Manasa, *Chem. Sci. Trans.* **1** (2), 303 (2012).
7. S. K. Thimmaiah, *Standard Methods of Biochemical Analysis* (Kalyani Publishers, New Delhi, 1999).
8. J. Labuda, M. Buckova, and L. Heilerova, *Sensors* **2**, 1 (2002).
9. В. В. Хасанов, Г. Л. Рыжова и Е. В. Мальцева, *Химия растительного сырья* **3**, 63 (2004).
10. M. B. Arnao, A. Cano, and J. Hernandez-Ruiz, *Anal. Biochem.* **236** (2), 255 (1996).
11. T. B. Shea, E. Rogers, D. Ashline, et al., *J. Neurosci. Methods* **125** (1–2), 55 (2003).
12. S. K. Chung and T. Osawa, *Food Sci. Biotechnol.* **7** (4), 209 (1998).
13. M. S. Blois, *Nature* **26**, 1198 (1998).
14. B. Yang, A. Kotani, and K. Arai, *Anal. Sci. (Japan)* **17**, 599 (2001).
15. E. Lissi, C. Pascual, and M. D. del Castillo, *Free Radic. Res. Commun.* **17** (5), 299 (1992).
16. E. Lissi, C. Pascual, and M. D. del Castillo, *Free Radic. Biol. Med.* **16** (6), 833 (1994).
17. E. Lissi, M. Salim-Hanna, C. Pascual, and M. D. del Castillo, *Free Radic. Biol. Med.* **18** (2), 153 (1995).
18. E. A. Lissi, J. Escobar, C. Pascual, et al., *Photochemistry and photobiology* **60** (5), 405 (1994).
19. G. H. Cao, H. M. Alessio, and R. G. Cutler, *Free Radic. Biol. Med.* **3** (14), 303 (1993).
20. X. F. Yang and X. Q. Guo, *Analyst* **126** (6), 928 (2001).
21. I. Dalle-Donne, G. Aldini, M. Carini, et al., *J. Cell. Mol. Med.* **10** (2), 389 (2006).
22. D. del Rio, A. J. Stewart, and N. Pellegrini, *Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases* **15** (4), 316 (2005).
23. V. Witko-Sarsat, M. Friedlander, C. Capeillere-Blandin, et al., *Kidney International* **49** (5), 1304 (1996).
24. Г. И. Клебанова, Ю. О. Теселкин, И. В. Бабенкова и др., *Вестн. РАМН* **2**, 15 (1999).
25. A. M. Polimova, G. A. Vladimirova, E. V. Proskurnina, et al., *Biofizika* **56** (4), 581 (2011).

Changes in Kinetics of Chemiluminescence of Plasma as a Measure of Systemic Oxidative Stress in Humans

M.M. Sozarukova, A.M. Polimova, E.V. Proskurnina, and Yu.A. Vladimirov

Faculty of Basic Medicine, Lomonosov Moscow State University, Lomonosovsky prosp. 31/5, Moscow, 119192 Russia

Oxidative stress is a pathogenetic factor of many diseases. The control of its level is important for early diagnosis and therapy adjustment. In this work, antioxidant status was estimated in blood plasma. In the system of 2,2'-azo-bis(2-amidinopropane)dihydrochloride–luminol a set of chemiluminescence kinetic curve parameters is proposed for oxidative stress level estimation (the latent period τ_{lat} and the increasing of analytical signal ΔI_{CL}). Uric acid and albumin were shown as the main components that responsible for changes in chemiluminescence kinetic curve of plasma. Serum albumin undergoes oxidative modification in dose-depend manner under the action of UV irradiation, it causes the enhancement of antioxidant properties. Changes in plasma chemiluminescence kinetics are proposed as a measure of oxidative stress in human body.

Key words: albumin, oxidative stress, oxidative modification of proteins, plasma, chemiluminescence