МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОГО РАВНОВЕСИЯ И КОНЦЕНТРАЦИИ ГЛУТАТИОНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ.

© Кабанов Александр Владимирович

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет

194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2. E-mail: alk979@yandex.ru

Ключевые слова: глутатион, количественное определение, антиоксиданты

Введение. В последние десятилетия специалисты стали всё чаще обращать внимание на состояние систем антиоксидантной защиты организма как на показатели общего состояния организма при различных патологиях и средство прогнозирования возможных осложнений. Особенно важное место в ряду таких показателей занимает тиол-дисульфидное равновесие организма.Тиоловые соединения как биологически активные вещества принимают непосредственноеи многостороннее участие в процессах жизнедеятельности организма. Считается, что есть возможность оценивать функциональное состояние антиоксидонтной защиты по величине отношения концентрации тиольных и дисульфидных групп в биосубстрате и использовать этот показатель как интегральный тест для оценки неспецифической резистентности организма.

Цель работы: ознакомить широкий круг специалистов с методами количественного определения глутатитона и продуктов его окисления для развития диагностических возможностей отечественной медицины.

Материалы и методы.Методом стал анализ литературных источников.

Результаты.Наиболее популярным в нашей стране является метод определения свободных тиольных групп методом амперометрического титрованияраствором нитрата серебра.В ИАП РАН был разработан анализатор тиоловыхактиоксидантов для реализации метода количественного определения тканевых сульфгидрильных и дисульфидных групп амперометрическим титрованием в одной пробе. По данной методике сначала упомянутым методом определяется количество сульфгидрильных групп в пробе по точке перегиба на кривой титрования. Определение дисульфидных групп в той же пробе проводится при известном избытке количества ионов серебра, величина сигнала которого (по АЦП) откладывается на кривой титрования. В титруемый раствор вносят необходимое количество восстановителя (например, сульфитнатрия) для восстановления дисульфидных групп.

Вновь образовавшиеся сульфгидрильные группы вступают в химическую реакцию с ионами серебра, в результате чего величина сигнала на АЦП уменьшается пропорционально количеству израсходованных при реакции ионовAg+. По кривой титрования определяют количество ионов металла, вступивших в реакцию с образовавшимисясульфгидрильными группами, и по полученным величинам рассчитывают количество дисульфидных групп в пробах.

Другим применимым для нужд диагностики методом определения тиольных групп является спектрофотометрия в видимой области (λ=412 нм) после взаимодействия с реактивом Эллмана (DTNB) в водно-метанольном растворе. Требуется тщательное удаление белков из анализируемого образца. Для получения точного количественного результата необходимо построение калибровочной кривой по растворам ацетилцистеина.

Принципиально возможно также использовать метод определения глутатиона по интенсивности флуоресценции продукта его взаимодействия с орто-фталевым ангидридом. Используется длина волны возбуждения 350 нм. Флюоресценция регистрируется при длине волны 420 нм. Метод также требует тщательного удаления белков из исследуемого образца.

Заключение. Современная наука предлагает достаточное разнообразие как электрохимических, так и оптических методов количественного определения тиольных групп в целом и глутатиона в частности. Было бы желательно, чтобы они более широко использовались в повседневной диагностической практике.