

**РЕГИСТРАЦИЯ БРОМИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ МИЕЛОПЕРОКСИДАЗЫ С ПОМОЩЬЮ ФЛУОРЕСЦЕИНА**

Д. В. Григорьева<sup>1\*</sup>, И. В. Горудко<sup>1</sup>, В. Е. Реут<sup>1</sup>, А. В. Симакин<sup>2</sup>, В. А. Костевич<sup>3,4</sup>,  
Н. П. Горбунов<sup>3,4</sup>, О. М. Панасенко<sup>4</sup>, А. В. Соколов<sup>3,4</sup>

УДК 577.152.193

<sup>1</sup> Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь; e-mail: dargr@tut.by

<sup>2</sup> Институт общей физики им. А. М. Прохорова РАН, Москва, Россия;  
e-mail: asimakin@gmail.com

<sup>3</sup> Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;  
e-mail: biochemsokolov@gmail.com

<sup>4</sup> Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины имени академика Ю. М. Лопухина Федерального медико-биологического агентства, Москва, Россия; e-mail: o-panas@mail.ru

(Поступила 12 июня 2023, в окончательной редакции — 12 января 2024)

Исследовано изменение спектрально-люминесцентных свойств флуоресцеина после его взаимодействия с различными активными формами кислорода и галогенов ( $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $HOCl$ ,  $HOBr$ ,  $HOSCN$ ,  $N$ -хлорамин и  $N$ -бромамин таурина), а также в системе миелопероксидаза (МПО)- $H_2O_2$ - $Cl^-/Br^-/SCN^-$ . Установлено, что после взаимодействия исключительно с  $HOBr$ , а также в системе МПО- $H_2O_2$ - $Br^-$  флуоресцеин превращается в соединение с максимумом поглощения на 518 нм. Максимум флуоресценции данного соединения регистрируется на длине волны 540 нм при возбуждении на 520 нм, что соответствует характеристикам бромированного флуоресцеина — эозина Y. Подобраны оптимальные условия (фосфатно-солевой буфер (pH 7.4), содержащий 137 мМ NaCl, 5 мкМ флуоресцеина, 15–30 мМ NaBr и 25–50 мкМ  $H_2O_2$ ) для регистрации образования в растворе  $HOBr$ , на основании чего предлагается качественный метод определения бромлирующей активности МПО *in vitro*. С использованием разработанного метода исследовано влияние физиологических и искусственно синтезированных ингибиторов, а также скэвенджеров активных форм кислорода и галогенов на бромлирующую активность МПО. На основании полученных данных установлено, что флуоресцеин представляет собой перспективное соединение для разработки на его основе флуоресцентного метода регистрации бромлирующей активности гемсодержащих пероксидаз млекопитающих.

**Ключевые слова:** миелопероксидаза, флуоресцеин, эозин Y, бромноватистая кислота, бромлирующая активность.

The change of spectral-luminescent properties of fluorescein after its interaction with various reactive oxygen and halogen species ( $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $HOCl$ ,  $HOBr$ ,  $HOSCN$ , taurine  $N$ -chloramine and taurine  $N$ -bromamine), as well as in the myeloperoxidase (MPO)- $H_2O_2$ - $Cl^-/Br^-/SCN^-$  system has been studied. It has been found that after interaction only with  $HOBr$  as well as in the MPO- $H_2O_2$ - $Br^-$  system fluorescein turns into a compound having an absorption maximum at 518 nm. The fluorescence maximum of this compound is recorded at wavelength of 540 nm when excited at wavelength of 520 nm, that corresponds to the characteristics of brominated fluorescein — eosin Y. Optimal conditions (phosphate-buffered saline (pH 7.4) contain-

**REGISTRATION OF THE MYELOPEROXIDASE BROMINATIVE ACTIVITY USING FLUORESC EIN**

D. V. Grigorieva<sup>1\*</sup>, I. V. Gorudko<sup>1</sup>, V. E. Reut<sup>1</sup>, A. V. Simakin<sup>2</sup>, V. A. Kostevich<sup>3,4</sup>, N. P. Gorbunov<sup>3,4</sup>,  
O. M. Panasenko<sup>4</sup>, A. V. Sokolov<sup>3,4</sup> (<sup>1</sup> Belarusian State University, Minsk, Belarus; e-mail: dargr@tut.by;  
<sup>2</sup> Prokhorov General Physics Institute of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia; e-mail:  
asimakin@gmail.com; <sup>3</sup> Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russia; e-mail: biochem-  
sokolov@gmail.com; <sup>4</sup> Lopukhin Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine  
of Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russia; e-mail: o-panas@mail.ru)