Образование пероксинитрита под действием УФ-излучения самостоятельного искрового разряда на воздухе

\*Бурхина О.Е., \*Иванова И.П., \*Ичеткина А.А., Пискарев И.М., \*Трофимова С.В.

НИИЯФ МГУ, Москва, Россия, i.m.piskarev@gmail.com,
\*Нижегородская медицинская академия, Нижний Новгород, Россия, ivanova.ip@mail.ru

Важная роль окислов азота в биологических процессах была обнаружена сравнительно недавно. Установлено также, что еще более активным агентом является пероксинитрит ONOO− и его протонированная форма, пероксиазотистая кислота ONOOH (pKa = 6.8). При биологически важных условиях (pH = 7.4) существуют как ионная, так и протонированная формы. Известно, что протонированная форма имеет период полураспада ~ 1.3 с, в то время, как ионная форма живет намного больше, и при pH ~ 13 может сохраняться несколько суток даже при комнатной температуре.

В работах, выполненных авторами ранее, было установлено, что при обработке бидистиллированной воды (рН – 6,5) излучением самостоятельного искрового разряда на воздухе (ИР) с энергией в импульсе 0.059 Дж происходит значительное снижение pH (до 2.5 – 3). Механизм уменьшения pH связан с образованием и последующим распадом пероксинитрита.

Излучение ИР в данном исследовании имеет сплошной спектр нагретого черного тела с максимумом при λ = 220 нм, передний фронт импульса 0,1 мкс, полная длительность 100 мкс, частота повторения 10 Гц. Из-за высокой мгновенной плотности излучения становится возможным взаимодействие между собой продуктов, образовавшихся под действием излучения.

В работе исследованы изменения pH растворов азотной кислоты (pH0 от 2 до 4.7), бидистиллированной воды (pH0 = 6.5), раствора Хенкса (pH0 = 7.2) и растворов NaOH с pH0 от 9 до 13. Спектры поглощения и значения pH измерялись в течение 15 суток после обработки с интервалом в 1 сутки. Установлено, что при pH0 от 2 до 11.5 выход ионов NO3− в процессе обработки в течение 20 минут составляет (1.3 ± 0.3) 10−3 моль/л. Образование ионов NO3− обусловлено распадом пероксинитрита ONOO−. При pH > 11.9 выход ионов NO3− растет и достигает 7 10−3 моль/л за 20 минут (pH0 ~ 13). В течение 15 суток pH щелочного раствора уменьшается на 2 – 3 единицы pH, кислых растворов – практически не меняется, а нейтральных – увеличивается. В спектрах поглощения наблюдаются две широкие линии: одна при λ = 302 нм, которая может быть отнесена к пероксинитриту, ε = 1670 (моль см)−1 и ионам NO3− , ε ~ 10 (моль с)−1; другая при λ = 355 нм, может быть отнесена к нитрозаминам (ε ~ 100) и ионам NO2− (ε ~ 20). В растворах с pH0, близких к нейтральным, сразу поле обработки ИР наблюдается линия 355 нм. В процессе наблюдения установлено, что со временем этот пик уменьшается и к 10 суткам пропадает, но появляется пик 302 нм. Наблюдаемые экспериментально особенности поведения обработанных излучением ИР растворов позволяют предположить, что под действием импульса излучения при высокой локальной плотности первичных частиц образуется продукт X, который имеет время жизни порядка 10 суток. Вещество X может быть димером пероксинитрита, либо комплексом HOONO-ONOO−, время жизни которого составляет порядка 10 суток. При распаде продукт X высвобождает пероксинитрит. Это позволяет предположить механизм бактерицидного и цитотоксического действия ИР. После обработки излучением ИР взвеси клеток в жидкости образуется вещество X, которое диффундирует через мембрану клеток, проникает внутрь, там распадается на пероксинитрит, который и вызывает гибель прокариотических и эукариотических клеток.