

Metodă de apreciere a influenței substanțelor biologice active asupra capacității de producere a hidrogenului sulfurat de către un țesut biologic, care constă în aceea că se pregătesc substanțele pentru testare în diferite concentrații, care se amestecă cu o soluție de 0,05 M de tampon fosfat cu pH-ul 7,4, după care se pregătește omogenizatul tisular, în care se utilizează țesutul hepatic, care se omogenizează timp de 30...60 s cu o soluție de 0,05 M de tampon fosfat cu pH-ul 7,4, care conține o soluție de 1% de 3-[(3-cholamidopropil)dimetilamonio]-1-propanesulfonat hidrat, după care probele se îngheață și se dezgheață la temperatura camerei, timp de 5...10 min, iar procedura de înghețare și dezghețare se repetă de 2 ori, apoi omogenizatul tisular se centrifughează timp de 10 min la temperatura de 4°C și se determină concentrația de proteină în omogenizat; se pregătesc probele de cercetat, de control și probele blank cu utilizarea plăcii fotometrice cu godeuri, în probele de cercetat se pipetează substanța de cercetat în diverse diluții, iar în probele de control se pipetează o soluție de 0,05 M de tampon fosfat cu pH-ul 7,4 și quercetină în calitate de substanță de referință, apoi în ambele probe se adaugă omogenizat tisular pregătit cu o soluție de 0,05 M de tampon fosfat cu pH-ul 7,4, în concentrație de 1,0...3,0 mg proteină/mL, probele blank se montează la fel ca și probele de control, iar omogenizatul tisular se înlocuiește cu soluția de 0,05 M de tampon fosfat cu pH-ul 7,4, care conține o soluție de 1% de 3-[(3-cholamidopropil)dimetilamonio]-1-propanesulfonat hidrat; placa cu probele pregătite se incubează la temperatura de 37°C, timp de 5...10 min, după care în toate godeurile se adaugă un amestec, ce conține o soluție de 0,05 M de tampon fosfat cu pH-ul 7,4, 0,2...0,4 μM/L de L-cisteină (concentrația finală de 0,8...1,6 mM/L) și 0,02...0,04 μM/L de piridoxal 5'-fosfat (concentrația finală de 0,08...0,16 mM/L), apoi probele se acoperă cu un capac, care conține în partea interioară un strat de gel de agaroză de 3...5 mm, obținut prin amestecarea unei soluții de 1% de agaroză cu temperatura de 50...55°C cu o soluție, care conține 0,18 M de tartrat de sodiu și potasiu și 0,08 M de hidroxid de cupru (II), în raport de 4:1, cu pH-ul 9,0...9,7; probele se incubează la temperatura de 37°C, timp de 2 ore, după care capacul cu gelul de agaroză se introduce în cititorul de plăci și se măsoară absorbanta la lungimea de undă de 320 nm, apoi se calculează capacitatea de producere a hidrogenului sulfurat sub influența substanțelor cercetate după formula:

$CP (\%) = 100 - [1 - (Apr - Ab) / (Ak - Ab)] * 100$ , unde:

CP(%) - capacitatea de producere a hidrogenului sulfurat;

Apr - absorbanta probei de cercetat;

Ak - absorbanta probei de control;

Ab - absorbanta probei blank;

în cazul în care capacitatea de producere a hidrogenului sulfurat este mai mare de 100%, substanța cercetată activează capacitatea de producere a hidrogenului sulfurat, iar dacă este mai mică de 100%, substanța cercetată inhibă capacitatea de producere a hidrogenului sulfurat.