

УДК 543.552:543.554:612.1

Копейкина Ю.Д., Царькова Т.Г., Горончаровская И.В., Евсеев А.К.

ЦИКЛИЧЕСКАЯ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЯ В ПЛАЗМЕ КРОВИ

Копейкина Юлия Дмитриевна, студентка 4 курса факультета технологии неорганических веществ и высокотемпературных материалов;

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия
125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 20

Горончаровская Ирина Викторовна, к.х.н., научный сотрудник лаборатории клеточных и физико-химических медицинских технологий, e-mail: goririna22@gmail.com;

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», Москва, Россия
129090, Москва, Б. Сухаревская площадь, д.3

Царькова Татьяна Григорьевна, к.х.н., профессор кафедры технологии неорганических веществ и электрохимических процессов;

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева, Москва, Россия
125480, Москва, ул. Героев Панфиловцев, д. 20

Евсеев Анатолий Константинович, д.х.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных и физико-химических медицинских технологий

ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ», Москва, Россия
129090, Москва, Б. Сухаревская площадь, д.3

В настоящей работе исследованы возможности метода циклической вольтамперометрии для оценки баланса про- и антиоксидантов в плазме крови. Установлено, что существуют значительные различия в циклических вольтамперных кривых в плазме крови здоровых людей и пациентов с тяжелой сочетанной травмой, выражающиеся в изменении высот волн окисления. Установлено также, что полученные данные коррелируют с данными измерений потенциала при разомкнутой цепи платинового электрода в плазме крови.

Ключевые слова: плазма крови, циклическая вольтамперометрия, платиновый электрод, потенциал при разомкнутой цепи, антиоксиданты

CYCLIC VOLTAMMETRY IN BLOOD PLASMA

Kopeikina Yu.D., Goroncharovskaya I.V.*, Tsarkova T.G., Evseev A.K.*

D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia, Moscow, Russia

*N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine, Moscow, Russia

The possibilities of the cyclic voltammetry for estimating the balance of pro- and antioxidants in blood plasma are investigated. It was found that there are significant differences in cyclic voltammetric curves in blood plasma of apparently healthy people and patients with severe combined trauma, expressed in a change in the heights of oxidation waves. The correlation between measurements by cyclic voltammetry and by open circuit potential of platinum electrode in blood plasma was established.

Keywords: blood plasma, cyclic voltammetry, platinum electrode, open circuit potential, antioxidants

Введение

Внедрение электрохимических методов анализа для оценки состояния пациентов с различными патологическими состояниями является перспективным направлением в медицине, вследствие их простоты, чувствительности и относительно невысокой стоимости. В настоящее время одним из успешно зарекомендовавших себя электрохимических методов для оценки состояния пациентов является метод измерения потенциала платинового электрода при разомкнутой цепи (ПРЦ) в плазме крови. При своей простоте исполнения этот метод показал свою значительную информативность. Так, мониторинг ПРЦ в плазме крови пациентов с различными патологическими состояниями, например, после трансплантации

органов (почки, печени, и легкого) [1] позволил разработать прогностические критерии развития у пациентов осложнений, в том числе криза отторжения трансплантата. Однако значение ПРЦ в плазме крови является интегральной величиной, отражающей суммарное соотношение всех про- и антиоксидантов в организме человека. Поэтому разработка дополнительных количественных методов оценки баланса про-и антиоксидантов является актуальной задачей.

Одним из таких методов может являться метод циклической вольтамперометрии (ЦВА), который широко применяется в электроаналитической химии для количественного определения и исследования окислительно-восстановительных свойств молекул в растворе [2]. В плазме крови человека содержится

большое количество антиоксидантов, защищающих организм от воздействия свободных радикалов. Известно, что антиоксидантную систему плазмы крови составляют две большие группы антиоксидантов – антиоксидантные ферменты и низкомолекулярные антиоксиданты [2]. Поскольку количественная характеристика антиоксидантной активности плазмы крови может быть выражена концентрацией содержащихся в ней низкомолекулярных антиоксидантов, таких как аскорбиновая кислота, глутатион, мочевая кислота, токоферол и др. [3], являющихся электроактивными веществами, то метод ЦВА может быть использован для их определения.

Известны немногочисленные работы, посвященные применению метода циклической вольтамперометрии для определения антиоксидантной активности плазмы крови пациентов с различными патологическими состояниями, например, пациентов с хроническим диабетом [3], пациентов после пересадки костного мозга [3] и пациентов с хронической почечной недостаточностью [4]. Эти работы показали, что величина антиоксидантной активности плазмы крови, измеренная с помощью метода ЦВА коррелировала с тяжестью состояния пациентов. Однако условия проведения измерений в этих работах разнятся, кроме того, отсутствует систематическое исследование состояния пациентов в динамике.

Таким образом, целью данной работы является исследование возможностей метода циклической вольтамперометрии для оценки баланса про- и антиоксидантов в плазме крови, на примере пациентов с тяжелой сочетанной травмой.

Методика исследования

Объектом исследования была плазма крови практически здоровых доноров-добровольцев и пациентов отделения общей реанимации НИИ СП им. Н.В. Склифосовского с тяжелой сочетанной травмой. Забор крови осуществляли путем венопункции в вакуумные пробирки Vacutainer® LH 102 I.U. (BD, Великобритания) с антикоагулянтом гепарином лития. Плазму крови отделяли от форменных элементов путем центрифугирования при 1500g в течение 15 минут в центрифуге CR 3.12 (Jouan, Франция). Объем образца плазмы крови для измерения составлял 2 мл.

Снятие ЦВА кривых проводили в неразбавленных образцах плазмы крови с помощью потенциостата IPC-Pro L (ЗАО «Кронас», Россия) в трехэлектродной электрохимической ячейке на платиновом электроде ЭПЛ-02 (ОАО «Гомельский завод измерительных приборов», Республика Беларусь), в качестве электрода сравнения выступал насыщенный Ag/AgCl электрод, вспомогательного электрода - Ti/Pt сетка.

ЦВА снимали в диапазоне потенциалов от 0 мВ до +1200 мВ со скоростью развертки потенциала 10 мВ/с. Перед каждым измерением в плазме крови проводились измерения в фоновом растворе (0,15 М

NaCl) при тех же условиях для оценки состояния электрода.

Измерение ПРЦ платинового электрода в плазме крови проводили в соответствии с методикой, описанной в [5].

Результаты и обсуждение

При проведении исследований в плазме крови практически здоровых людей на циклических вольтамперных кривых было обнаружено наличие двух волн окисления с пиками при потенциалах ~600 и ~900 мВ (рис. 1, пунктирные кривые). Было предположено, что данные пики могут соответствовать процессам окисления антиоксидантов, находящихся в плазме крови. Действительно, согласно литературным данным, считается, что первая волна отвечает окислению аскорбиновой и мочевой кислот, а вторая волна – окислению липоевой кислоты [3].

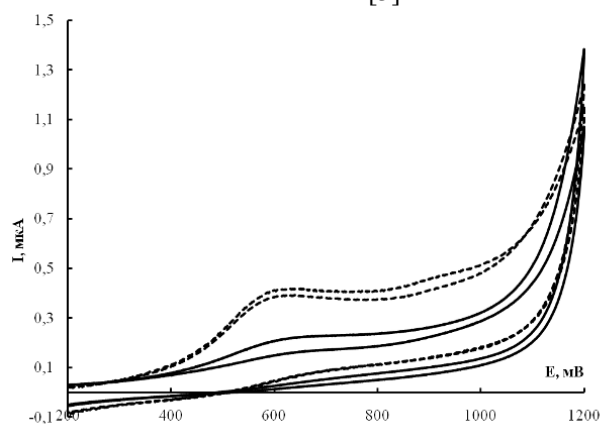


Рис. 1. Циклические вольтамперограммы в плазме крови: пациент Б. (сплошные кривые), доноры (пунктирные кривые)

При мониторинге пациентов с тяжелой сочетанной травмой было обнаружено, что кривые ЦВА в плазме крови пациентов (рис.1, сплошные кривые), отличаются от кривых в плазме крови практически здоровых доноров. Так, на кривых ЦВА в плазме крови пациента Б. высоты обеих волн окисления оказались значительно ниже по сравнению с данными, полученными для здоровых людей. Данное обстоятельство может свидетельствовать о снижении концентрации антиоксидантов в плазме крови. Полученные результаты совпадают с литературными данными, указывающими на снижение антиоксидантной защиты организма и развитие окислительного стресса у пациентов, находящихся в критическом состоянии [6].

Для дополнительной оценки состояния баланса про- и антиоксидантной систем организма был проведен мониторинг ПРЦ платинового электрода в плазме крови пациентов, указанных выше.

Было обнаружено, что более низкими значениями высот волн на кривых ЦВА, полученных для пациента Б., соответствуют величины ПРЦ платинового электрода находящиеся в области положительных значений потенциалов (рис. 2), что отражает смещение баланса про- и антиоксидантов в

сторону преобладания прооксидантов. Подчеркнем, что столь высокие значения величин ПРЦ превышают значения, характерные для практически здоровых людей (от -11 до -56 мВ [1]), что в свою очередь так же совпадает со снижением высот пиков окисления у пациента по сравнению с данными для практически здоровых людей. Так, можно сделать вывод о схожем характере изменения данных величин.

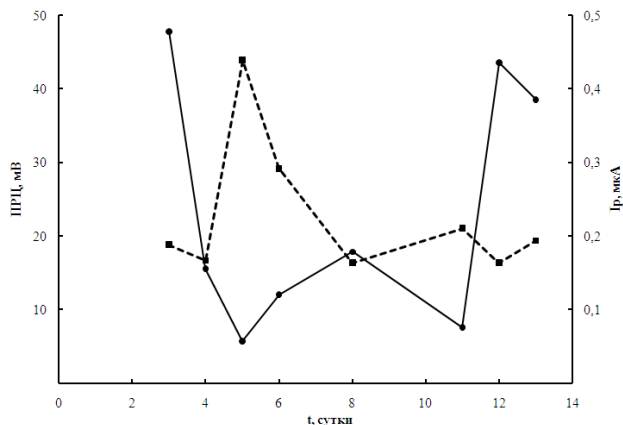


Рис. 2. Мониторинг пациента Б. с помощью метода измерения ПРЦ платинового электрода (—) и методом ЦВА (- -) в плазме крови.

Таким образом, метод ЦВА позволяет получить дополнительную информацию о балансе про- и антиоксидантов в организме. Необходимы дальнейшие исследования для выявления количественных критериев оценки состояния пациентов с различными патологиями. Комплексное использование электрохимических методов при мониторинге пациентов позволит получать больше информации для прогнозирования их состояния с целью повышения качества лечения.

Выводы

1. Показано, что метод циклической вольтамперометрии в плазме крови может служить

дополнительным критерием оценки состояния антиоксидантной системы организма.

2. Обнаружены взаимосвязь данных, полученных методами циклической вольтамперометрии и измерения ПРЦ платинового электрода в плазме крови у пациентов с тяжелой сочетанной травмой.

Список литературы

1. Goldin Michael M., Khubutiya M.Sh., Evseev A.K. [et al.] Noninvasive diagnosis of dysfunctions in patients after organ transplantation by monitoring the redox potential of blood serum // Transplantation. – 2015. – V. 99. - N 6. – PP. 1288-1292.
2. Sochor J., Dobes J., Krystofova O. [et al.] Electrochemistry as a tool for studying antioxidant properties // Int. J. Eletrochem. Sci. – 2013. – V. 8. – PP. 8464-8489.
3. Chevion S., Roberts M.A., Chevion M. The use of cyclic voltammetry for the evaluation of antioxidant capacity // Free Rad. Biol. Med. – 2000. – V. 28. - PP. 860-870.
4. Psotova J., Zahalkova J., Hrbac J. [et al.] Determination of total antioxidant capacity in plasma by cyclic voltammetry. Two case reports // Biomed. Papers. – 2001. – V. 145. – PP. 81-83.
5. Хубутия М.Ш., Евсеев А.К., Колесников В.А. и др. Измерения потенциала платинового электрода в крови, плазме и сыворотке крови // Электрохимия. – 2010. – Т. 46, № 5. – С. 569-573.
6. Roth E., Manhart N., Wessner B. Assesing the oxidative status in critically ill patients // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. – 2004. – V. 7. – PP. 161-168.