

ФИЗИЧЕСКАЯ
ХИМИЯ

УДК 543.552+612.1:616-037

ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ
У ПАЦИЕНТОВ С ТЯЖЁЛОЙ СОЧЕТАННОЙ ТРАВМОЙ

Академик РАН А. Ю. Цивадзе¹, С. С. Петриков^{2,*}, И. В. Горончаровская^{2,*}, А. К. Евсеев^{2,*},
А. К. Шабанов^{2,*}, О. В. Батищев¹, В. Н. Андреев¹, М. М. Гольдин³

Поступило 04.02.2019 г.

Исследования в области электрохимических приложений в медицине позволили решить ряд важных научно-практических задач по разработке новых методов диагностики функционального состояния клеток крови и гемокоррекции. В настоящей работе впервые показаны возможности применения метода циклической вольтамперометрии в сыворотке крови у пациентов с тяжёлой сочетанной травмой, находящихся в критическом состоянии, для выявления на ранних стадиях нарушений в функционировании антиоксидантной системы организма и прогнозирования исхода травмы.

Ключевые слова: вольтамперометрия, сыворотка крови, антиоксидантная активность, сочетанная травма, платиновый электрод.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-5652486161-64>

Мониторинг состояния пациентов и прогнозирование исхода травмы является важной медицинской задачей и включает в себя комплекс клинических анализов. Особенно значимым является оценка функционирования системы антиоксидантной защиты у пациентов в критическом состоянии с тяжёлой сочетанной травмой (травма органов двух и более анатомических областей), поскольку патологические процессы, обусловленные тяжёлой травмой, приводят к повышенному и нерегулируемому образованию свободных радикалов и как следствие — развитию окислительного стресса [4, 5].

Одним из возможных путей оценки функционирования системы антиоксидантной защиты организма является определение общей антиоксидантной активности (АОА) биологических сред (сыворотки или плазмы крови) [6], которая в основном определяется содержанием низкомолекулярных антиоксидантов [7], таких как, например, аскорбиновая кислота, мочевая кислота, глутатион, токоферол и др. [8].

Наиболее распространённые спектрофотометрические методы определения общей АОА биологических сред (методы (TEAC — Trolox equivalent antioxidant capacity, FRAP — Ferric reducing/antioxidant power и др.) [9] обладают существенным недостатком — невозможностью проведения измерений в гемолизированных образцах.

Указанного недостатка лишены электрохимические методы, например, метод циклической вольтамперометрии (ЦВА), возможности применения которого были показаны в немногочисленных работах на примере анализа АОА плазмы крови пациентов с некоторыми патологическими состояниями (хроническая почечная недостаточность, хронический диабет, состояние после пересадки костного мозга) [8, 9].

Отметим, что в указанных исследованиях не приводятся данные по определению АОА плазмы крови у пациентов методом ЦВА в динамике. Кроме того, отсутствуют исследования, посвящённые определению АОА в плазме крови с помощью вольтамперометрического анализа у пациентов с тяжёлой сочетанной травмой в критическом состоянии, хотя определение антиоксидантного статуса у пациентов указанной группы является не только медицинской, но и важной социально значимой задачей, так как пострадавшие в основном являются лицами трудоспособного возраста.

¹Институт физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина Российской Академии наук, Москва

²Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва

³Glen Oaks Community College, Centreville, USA

*E-mail: goririna22@gmail.ru

Таким образом, целью настоящей работы был мониторинг пациентов с тяжёлой сочетанной травмой с помощью вольтамперометрического анализа в сыворотке крови.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Было обследовано 50 пациентов (33 мужчины и 17 женщин) с тяжёлой сочетанной травмой и 41 практически здоровый донор-доброволец. В качестве объекта исследования использовали сыворотку крови, полученную из цельной крови путём центрифугирования при 1500 g в течение 10 мин в центрифуге CR3.12 (“Joan”, Франция). Объём образца сыворотки крови для измерения составлял 1 мл.

Электрохимические измерения проводили в режиме циклической развёртки потенциала со скоростью 10 мВ/с в диапазоне потенциалов от 200 до 1200 мВ с помощью потенциостата IPC-ProL (ЗАО “Кронас”, Россия) в трёхэлектродной электрохимической ячейке. Платиновый электрод площадью 0,016 см² использовали в качестве рабочего, насыщенный хлоридсеребряный электрод служил электродом сравнения, в качестве противоиэлектрода использовали сетку из платинированного титана с геометрической площадью 0,19 см².

Перед каждым измерением платиновый электрод подвергался предварительной обработке в том же диапазоне потенциалов в растворе фонового электролита (0,15 М NaCl).

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica 10 (StatSoft). Для оценки достоверности различий измеренных величин использовали U-критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

При проведении поляризационных измерений в сыворотке крови практически здоровых доноров на вольтамперной кривой было обнаружено наличие волны с максимумом при потенциале 600 мВ и второй слабовыраженной волны с максимумом при потенциале около 900 мВ (рис. 1, кривые 2, 3). Согласно литературным данным [8, 10], указанные волны отвечают процессам электроокисления низкомолекулярных антиоксидантов, находящихся в сыворотке крови. Так, считается, что первая волна соответствует процессу электроокисления аскорбиновой и мочевой кислот, а вторая— электроокисле-

нию липоевой кислоты и других антиоксидантов [10]. Величина тока I в максимуме волны электроокисления и количество прошедшего электричества Q отражают содержание каждого антиоксиданта в сыворотке крови [8].

Потенциалы электроокисления некоторых низкомолекулярных антиоксидантов очень близки (например, аскорбиновой кислоты и мочевой кислот [11]), поэтому нами было предложено оценивать АОА сыворотки крови по суммарному количеству электричества Q , затраченного на окисление низкомолекулярных антиоксидантов, которое определяли путём интегрирования полученных поляризационных кривых.

Так, для практически здоровых людей средняя величина количества электричества, затраченная на окисление антиоксидантов в сыворотке крови, составила $21,9 \pm 3,7$ мкКл ($N = 41$). Поскольку известно [12], что у пациентов, находящихся в критическом состоянии, в целом отмечается угнетение системы антиоксидантной защиты организма, то следовало бы ожидать снижения высот волн окисления на вольтамперной кривой в сыворотке крови пациентов и, соответственно, величин Q . Действительно, было обнаружено, что у пациентов с тяжёлой сочетанной травмой наблюдается снижение пиков окисления антиоксидантов (рис. 1, кривые 4, 6). Однако в ряде случаев на ранних сроках было зафиксировано увеличение пиков окисления (рис. 1, кривая 5). Данное явление может быть связано с усилением продуцирования организмом антиоксидантов в ответ на повышающийся окислительный стресс [13, 14] либо с торможением свободнорадикальных процессов на фоне гипоксического состояния [15]. Однако дей-

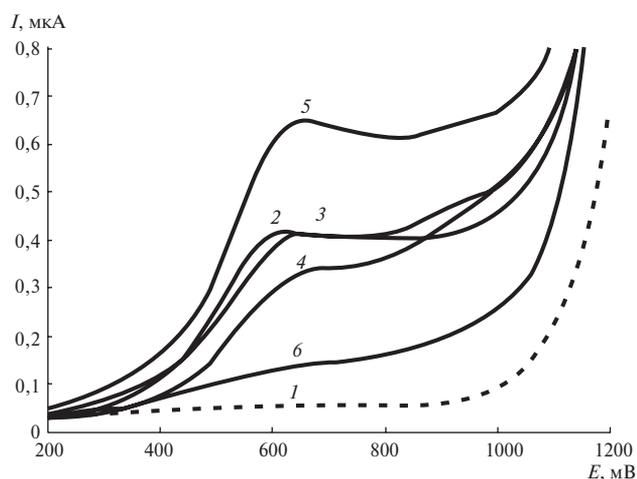


Рис. 1. Вольтамперограммы в фоновом растворе 0,15М NaCl (1), сыворотке крови доноров (2, 3) и пациентов с тяжёлой сочетанной травмой (4–6).

ствительные причины этого явления до сих пор остаются неясными.

Мониторинг величин Q в сыворотке крови пациентов показал, что в момент поступления у пациентов с благоприятным исходом средняя величина количества электричества, затраченного на окисление антиоксидантов в сыворотке крови, составила $21,8 \pm 3,9$ мкКл ($N = 27$), что практически соответствует величине Q , полученной для здоровых людей. В течение последующих 7 суток мониторинга происходило постепенное снижение этой величины до значений около $11 \pm 2,8$ мкКл ($N = 35$) (рис. 2, кривая 1). При дальнейшем мониторинге до двух недель значительных изменений величин Q выявлено не было.

В то же время было выявлено, что у пациентов с неблагоприятным исходом ($N = 15$) (рис. 2, кривая 2) в момент поступления величина Q значительно превышает указанную величину для пациентов с благоприятным исходом, достигая в среднем 37 мкКл. В дальнейшем наблюдалось снижение указанной величины, которая к четвёртым суткам достигала значений, полученных для пациентов с благоприятным исходом. Снижение достоверности различий величин Q у пациентов обеих групп после четырёх суток, вероятно, связано с влиянием проводимой терапии.

При статистической обработке полученных данных наибольшие различия измеряемой величины Q у пациентов указанных групп было выявлено в первые сутки мониторинга. Поэтому величину Q , полученную в первые сутки мониторинга, было предложено использовать в качестве критерия неблагоприятного исхода у пациента.

Оценку вероятности P развития неблагоприятного исхода у пациента в зависимости от величины Q

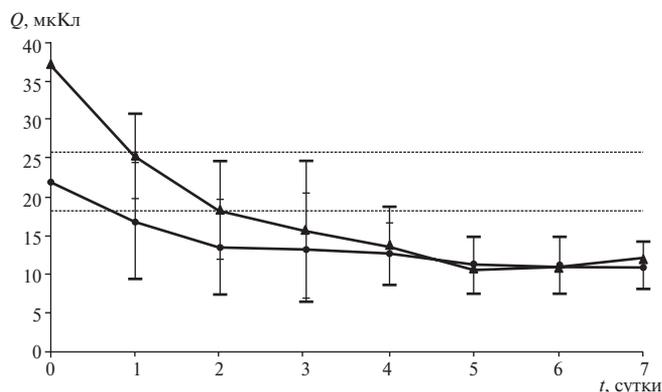


Рис. 2. Мониторинг Q : 1 — пациенты с благоприятным исходом; 2 — пациенты с неблагоприятным исходом. * $p < 0,05$.

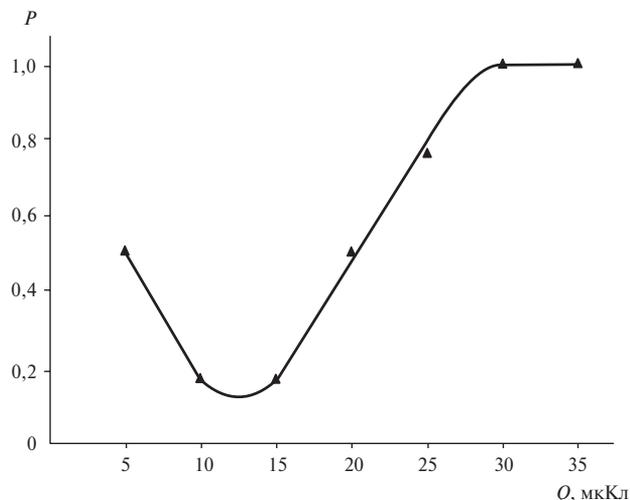


Рис. 3. Диаграмма условной вероятности P неблагоприятного исхода в зависимости от величины Q в первые сутки мониторинга.

в первые сутки мониторинга производили следующим образом. Весь диапазон величин Q , полученных в первые сутки мониторинга, был разделён на интервалы по 5 мкКл, и для каждого интервала была рассчитана вероятность развития неблагоприятного исхода как отношение числа пациентов с неблагоприятным исходом к общему числу пациентов с соответствующими величинами Q в первые сутки мониторинга (рис. 3).

Как видно из представленных данных (рис. 3), при значении величины Q порядка 25 мкКл вероятность неблагоприятного исхода составляет 80%, а уже при 30 мкКл доходит до 100%. Таким образом, полученная зависимость может быть использована для прогноза исхода у пациентов в критическом состоянии.

Таким образом, нами впервые применён метод циклической вольтамперометрии для мониторинга антиоксидантной активности сыворотки крови у пациентов с тяжёлой сочетанной травмой; предложено использовать величину количества электричества, определённого из данных поляризационных измерений в сыворотке крови у пациентов в критических состояниях, в первые сутки наблюдения в качестве прогностического критерия неблагоприятного исхода.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Цивадзе А.Ю., Хубутия М.Ш., Евсеев А.К., Горончаровская И.В., Боровкова Н.В., Шапиро А.И., Батищев О.В., Гольдин М.М. // ДАН. 2017. Т. 477. № 2. С. 190–193.
2. Цивадзе А.Ю., Хубутия М.Ш., Горончаровская И.В., Андреев В.Н., Макаров М.С., Хватов В.Б., Боров-

- кова Н.В., Евсеев А.К., Гольдин М.М. // ДАН. 2016. Т. 471. № 1. С. 58–61.
3. Цивадзе А.Ю., Хубутия М.Ш., Евсеев А.К., Горончаровская И.В., Андреев В.Н., Боровкова Н.В., Макаров М.С., Гольдин М.М. // Изв. АН. 2017. № 2. С. 368–372.
 4. Rogobete A.F., Sandesc D., Papurica M., Stoicescu E.R., Popovici S.E., Bratu L.M., Vernic C., Sas A.M., Stan A.T., Bedreag O.H. // Burns & Trauma. 2017. V. 5. № 1. P. 8–14.
 5. Andersen M., Regueira T., Leighton F. // Rev. Med. Chile. 2006. V. 134. P. 649–656.
 6. Singh R.S., Agarwal A., Gutch M., Kumar S., Mehdi A.A., Prakash V., Chaudhary S.C., Singh A., Pahan R.K. // ROS. 2017. V. 4. № 2. P. 434–440.
 7. Ghiselli A., Serafini M., Natella F., Scaccini C. // Free Radic. Biol. Med. 2000. V. 29. № 11. P. 1106–1114.
 8. Chevion S., Roberts M.A., Chevion M. // Free Radic. Biol. Med. 2000. V. 28. № 6. P. 860–870.
 9. Psotova J., Zahalkova J., Hrbac J., Simanek V., Bartek J. // Biomed. Pap. 2001. V. 142. № 2. P. 81–83.
 10. Mittal A., Flint R.J., Fanous M., Delahunt B., Kilmartin P.A., Cooper G.J.S., Windsor J.A., Phillips A.R.J. // Crit. Care Med. 2008. V. 36. № 3. P. 866–872.
 11. Sekli Belaidi F. // Sensors and Actuators B: Chem. 2015. V. 214. P. 1–9.
 12. Roth E., Manhart N., Wessner B. // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. 2004. V. 7. № 2. P. 161–168.
 13. Lorente L., Martin M.M., Almeida T., Abreu-Gonzalez P., Ferreres J., Sole-Violan J., Labarta L., Diaz C., Jimenez A. // J. Crit. Care. 2015. V. 30. № 1. P. 217. e7–217.e12.
 14. MacKinnon K.L., Molnar Z., Lowe D., Watson I.D., Shearer E. // Clin. Biochem. 1999. V. 32. P. 263–268.
 15. Bell E.L., Klimova T.A., Eisenbart J., Schumacker P.T., Chandel N.S. // Mol. Cell Biol. 2007. V. 27. № 16. P. 5737–5745.

VOLTAMMETRIC ANALYSIS IN BLOOD SERUM IN PATIENTS WITH SEVERE COMBINED TRAUMA

Academician of the RAS A. Yu. Tshivadze¹, S. S. Petrikov², I. V. Goroncharovskaya², A. K. Evseev²,
A. K. Shabanov², O. V. Batishchev¹, V. N. Andreev¹, M. M. Goldin³

¹*Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

²*N.V. Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Moscow, Russian Federation*

³*Glen Oaks Community College, Centreville, USA*

Received February 4, 2019

Voltammetric analysis of antioxidant activity of blood serum in patients with severe combined trauma showed differences in favorable and adverse outcome groups. Based on the experimental data a criterion for assessing risk of adverse outcome in critically ill patients is proposed.

Keywords: voltammetry, blood serum, antioxidant activity, combined trauma, platinum electrode.