

ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ NO В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

В.А. Попова

Научный руководитель – д.х.н., профессор Е.И. Короткова

Национальный исследовательский Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30, var25@tpu.ru

Макрофаги играют важную роль в развитии воспаления и, в зависимости от микроокружения, приобретают провоспалительный или противовоспалительный фенотип. Фенотип тканевых макрофагов подвержен изменениям в результате действия определенных сигналов, производимых опухолевым микроокружением, что приводит к формированию популяции макрофагов, ассоциированных с опухолью (MAO) [1]. При этом MAO способны иметь различный фенотип [2]: в опухоли отмечены как M1, так и M2-поляризованные типы [3]. Если популяция MAO, поляризованных по типу M1, подавляет развитие новообразования, то M2 (a&c) MAO способствуют росту опухоли [4]. Таким образом, можно предположить, что манипулируя фенотипом MAO, можно улучшить результат лечения рака.

Фермент индуцибельная NO-синтаза (iNOS), продуцирующая с высокой скоростью оксид азота (NO) в клетке, является важным фактором обретения тканевыми макрофагами легких функционального статуса M1. Таким образом, функциональным маркером образования макрофагов типа M1 является усиленная продукция NO. Поэтому, оценка продукции NO макрофагами может явиться важным маркером происходящего репрограммирования макрофагов при проведении терапевтических манипуляций.

Определение NO непосредственно в биологических системах требует разработки чувствительного и селективного метода для измерения его малых концентраций. Электрохимический метод, в данном случае, является одним из наиболее подходящих способов для контроля содержания NO.

Целью данной работы является электрохимическое определение NO, как маркера репрограммирования макрофагов, ассоциированных с опухолью в надклеточных жидкостях макрофагов на модифицированном электроде.

Эксперимент проводился на вольтамперометрическом анализаторе ТА-2 (Россия, Томск).

Трехэлектродная ячейка состояла из рабочего графитового электрода, модифицированного углеродными чернилами, Ag/AgCl/(KCl) использовали в качестве электрода сравнения и вспомогательного электрода.

Объектом исследования являлись надклеточные жидкости макрофагов (супернатанты), у которых изменяли тип поляризации (M1 или M2) посредством добавления липополисахаридов или интерлейкина-4 соответственно.

Супернатанты макрофагов проходили предварительную подготовку, включающую в себя очистку от белковой фракции. Для того, чтобы избавиться от мешающего влияния нитрит-ионов, поверхность электрода подвергали модификации анионообменным полимером – нафионом.

На модифицированном электроде снимались вольтамперограммы окисления NO с предварительным накоплением при $E_s = 0,4$ В, $t_s = 4$ с, $W = 100$ мВ • с⁻¹. При потенциале 0,9 В регистрировали пик окисления NO (рис. 1). Как видно из рисунка 1, у макрофагов типа M1 количество NO выше, чем у макрофагов с поляризацией M2.

Данный подход позволит проводить оценку уровня NO в биологических объектах, который, в свою очередь, является важным маркером происходящего репрограммирования макрофагов при проведении терапевтических манипуляций.

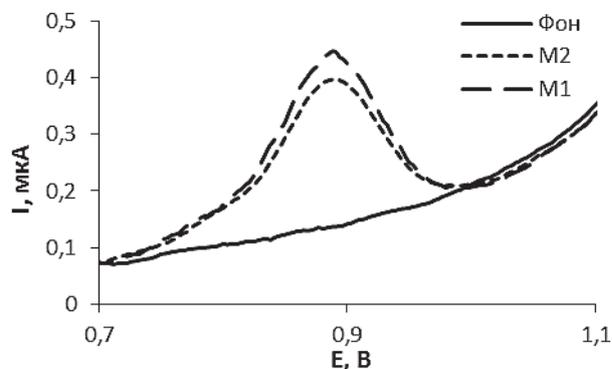


Рис. 1. Анодные вольтамперограммы NO на МГЭ в пробах макрофагов с M1-поляризацией и с M2-поляризацией

Список литературы

1. Chung F.T., Lee K.Y., Wang C.W. // *International Journal of Cancer*, 2012.– Vol.131.– №3.– P.227–235.
2. Mosser D.M., Edwards J.P. *Natural Reviews Immunology*, 2008.– Vol.18.– №6.– P.958–969.
3. Takeya M., Komohara Y., *Pathology International*, 2016.– Vol.66.– №9.– P.491–505.
4. Almatroodi S.A., McDonald C.F., Darby I.A., Pouniotis D.S., *Cancer Microenvironment*, 2016.– Vol.9.– №1.– C.1–11.

ПРЯМОЕ ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГАЛОДИФА

Д.С. Репкин

Научный руководитель – д.х.н. профессор Г.Б. Слепченко

Национальный исследовательский Томский политехнический университет
634050, Россия, г. Томск, пр. Ленина 30, repkindm@gmail.com

Одним из перспективных классов биологически активных веществ являются производные мочевины, из-за малой токсичности и широкого спектра фармакологической активности. Данный лекарственный препарат под торговым названием – «галодиф», а полное название 1-[(3-хлорфенил)(фенил) метил] мочевины синтезирован в НОЦ им. Кижнера ТПУ [1]. По этой причине появилась необходимость изучения закономерностей поведения галодифа физико-химическими методами анализа, а именно вольтамперометрией [2]. Вольтамперометрические методы наиболее часто применяются ввиду разрешающей способности, простоты приборного обеспечения. Также использование вольтамперометрии позволяет решать широкий диапазон задач, включая анализ рацемических смесей лекарственных препаратов [3].

Цель данной работы: изучение физико-химических закономерностей поведения галодифа на золото-графитовом электроде методом вольтамперометрии.

Определение проводили с помощью комплекса аналитического вольтамперометрического СТА (ТУ 4215-001-20694097-98), который оснащён тремя электрохимическими ячейками для возможности проводить сразу несколько определений. Такой анализатор может осуществлять следующие режимы развертки: накопительная, постоянно-токовая, ступенчатая, дифференциально-импульсная, а также квадратно-волновая. Рабочим электродом является графитовый электрод, модифицированный раствором золота 100 мг/дм³ в режиме «*in situ*». Вспомогательным и электродом сравнения являются хлоридсеребряные электроды, заполненные 1 М КСl. Для фонового электролита используется боратный буфер с pH – 9,18.

«Галодиф» имеет свойство электрохимически окисляться в присутствии золота на углеродных электродах различных типов, такие как: графитовый, стеклоуглеродный и углеситаловый. Наименьшее значение остаточного тока наблюдается на графитовом электроде, который применяется в качестве индикаторного.

Четкие пики окисления галодифа получены на фоне боратного буфера с pH – 9,18. Тангенс угла наклона градуировочного графика в боратном буфере с добавлением золота выше, чем без его добавления, поэтому электрохимическое определение проводили в режиме модификации золотом. Проведены исследования влияния концентрации золота на поверхности графитового электрода, нанесенного в режиме «*in situ*» на высоту пика галодифа. Исследования показывали, что при увеличении концентрации золота до $1,2 \cdot 10^{-3}$ г/л наблюдается увеличение высоты пика галодифа до максимального его значения. Дальнейшее увеличение концентрации золота приводит к незначительному уменьшению сигнала, вероятно, из-за прекращения изменения эффективной поверхности электрода и увеличения толщины осадка золота на нем.

На градуировочной зависимости наблюдается линейный отрезок в диапазоне концентраций: от 0,2 мг/л до 2,0 мг/л. Концентрация «галодифа» определялась по высотам аналитического сигнала со следующим диапазоном потенциалов: от +0,5 В до +1,1 В относительно хлоридсеребряного электрода сравнения.

Выбраны рабочие условия для вольтамперометрического определения: потенциал накопления –1,1 В, время накопления 15 с, скорость развертки поляризующего напряжения 35 мВ/с, режим регистрации – дифференциальный.