

DOI: 10.21122/2220-9506-2026-17-1-54-59

Полярографическая ячейка для исследования тканевого дыхания

Е.М. Белоус, О.С. Логвинович, Н.С. Мышковец, А.В. Литвинчук, А.Н. Коваль

Гомельский государственный медицинский университет,
ул. Ланге, 5, г. Гомель 246144, Беларусь

Поступила 26.04.2025

Принята к печати 22.12.2025

Тканевое дыхание представляет собой многостадийный биохимический процесс, в ходе которого клетки получают энергию путём окисления органических веществ. Изучение данного процесса актуально для понимания механизмов патогенеза многих заболеваний. Целью данной работы являлось совершенствование метода исследования тканевого дыхания биологических образцов посредством разработки и внедрения полярографической ячейки из эпоксидной смолы. Полярографическая ячейка состоит из корпуса, внутренней камеры для введения биологических образцов и веществ. В верхней части корпуса расположено два отверстия разного диаметра для введения биологических образцов во внутреннюю камеру и свободного выхода из неё изменённого объёма жидкости. В нижней части корпуса расположена термостатирующая трубка, выполненная из медицинского поливинилхлорида. Концы термостатирующей трубки выведены наружу и используются для присоединения к внешнему контуру водного термостата. Для работы во внутреннюю камеру ячейки, установленной на магнитную мешалку, вносят жидкую среду (буферный раствор) и биологический образец, устанавливают кислородный электрод, подключённый к многоканальной установке. Кислород-зависимый ток регистрируется программой «Record 4-usb». Оптимальную температуру в ячейке поддерживает водный термостат. После эксперимента жидкость с тканями удаляют, ячейку промывают и сушат. Результаты тестирования по оценке эксплуатационных свойств новой полярографической ячейки, полученные при исследовании скорости потребления кислорода тканевыми фрагментами тонкого кишечника интактных мышей с использованием разбавителя окислительного фосфорилирования – 2,4-динитрофенола, сопоставимы с типичными полярографическими кривыми поглощения кислорода, описанными в классических руководствах. Разработанная модель полярографической ячейки из эпоксидной смолы может стать экономически выгодной альтернативой дорогостоящему оборудованию, обеспечивая надёжность и воспроизводимость результатов. Применение данного устройства расширит доступность методики в медицинских и научных учреждениях, а также будет способствовать улучшению диагностических и фармакологических исследований. Простота эксплуатации, низкая стоимость и высокая воспроизводимость данных делают предложенную ячейку перспективным инструментом для фундаментальных и прикладных исследований в биомедицине.

Ключевые слова: биомедицинские исследования, тканевое дыхание, полярографическая ячейка, эпоксидная смола

Адрес для переписки:

Белоус Е.М.
Гомельский государственный медицинский университет,
ул. Ланге, 5, г. Гомель 246144, Беларусь
e-mail katy.belous@mail.ru

Address for correspondence:

Belous E.M.
Gomel State Medical University,
Lange str., 5, 246144, Gomel, Belarus
e-mail katy.belous@mail.ru

Для цитирования:

Е.М. Белоус, О.С. Логвинович, Н.С. Мышковец, А.В. Литвинчук, А.Н. Коваль.
Полярографическая ячейка для исследования тканевого дыхания. Приборы и методы измерений. 2026. Т. 17. № 1. С. 54–59.
DOI: 10.21122/2220-9506-2026-17-1-54-59

For citation:

E.M. Belous, O.S. Logvinovich, N.S. Myshkavets, A.V. Litvinchuk, A.N. Koval.
Polygraphic cell for tissue breathing research. Devices and Methods of Measurements. 2026;17(1):54-59. (In Russ.).
DOI: 10.21122/2220-9506-2026-17-1-54-59

DOI: 10.21122/2220-9506-2026-17-1-54-59

Polygraphic Cell for Tissue Breathing Research

E.M. Belous, O.S. Logvinovich, N.S. Myshkavets, A.V. Litvinchuk, A.N. Koval

Gomel State Medical University,
Lange str., 5, 246144, Gomel, Belarus

Received 26.04.2025

Accepted for publication 22.12.2025

Abstract

Tissue respiration is a multistage biochemical process during which cells obtain energy through the oxidation of organic substances. Studying this process is essential for understanding pathogenesis of many diseases. Aim of this study was to improve the method for studying tissue respiration of biological samples by developing and implementing a polarographic cell made from epoxy resin. The polarographic cell consists of a housing and an internal chamber for introducing biological samples and substances. The upper part of the housing contains two holes of different diameters for insertion biological samples into the internal chamber and allowing the free exit of the modified fluid volume from the chamber of the polarographic cell. A thermostatic tube made from medical-grade polyvinyl chloride is located in the lower part of the housing. The thermostatic tube ends are exposed and used for connection to the external circuit of a water thermostat. For operation, a liquid medium (buffer solution) and a biological sample are added to the internal chamber of a cell placed on a magnetic stirrer. An oxygen electrode connected to a multichannel system is also installed. The oxygen-dependent current is recorded using the Record 4-usb software. The optimal temperature in the chamber is maintained by a water thermostat. After the experiment is completed, the liquid containing tissues is removed, and the cell is washed and dried. The performance test results of the new polarographic cell, obtained in a study of the oxygen consumption rate of intact mouse small intestinal tissue fragments using the oxidative phosphorylation uncoupler 2,4-dinitrophenol, are comparable to typical polarographic oxygen uptake curves described in standard textbooks. The developed epoxy resin polarographic cell could become a cost-effective alternative to expensive equipment, ensuring reliable and reproducible results. The use of this device will expand the availability of this technique in medical and scientific institutions and will contribute to the improvement of diagnostic and pharmacological research. Its ease of use, low cost, and high data reproducibility make the proposed cell a promising tool for fundamental and applied biomedical research.

Keywords: biomedical research, tissue respiration, polarographic cell, epoxy resin

Адрес для переписки:

Белоус Е.М.
Гомельский государственный медицинский университет,
ул. Ланге, 5, г. Гомель 246144, Беларусь
e-mail katy.belous@mail.ru

Address for correspondence:

Belous E.M.
Gomel State Medical University,
Lange str., 5, 246144, Gomel, Belarus
e-mail katy.belous@mail.ru

Для цитирования:

Е.М. Белоус, О.С. Логвинович, Н.С. Мышковец, А.В. Литвинчук,
А.Н. Коваль.
Полярографическая ячейка для исследования тканевого дыхания.
Приборы и методы измерений.
2026. Т. 17. № 1. С. 54–59.
DOI: 10.21122/2220-9506-2026-17-1-54-59

For citation:

E.M. Belous, O.S. Logvinovich, N.S. Myshkavets, A.V. Litvinchuk,
A.N. Koval.
Polygraphic cell for tissue breathing research.
Devices and Methods of Measurements.
2026;17(1):54–59. (In Russ.).
DOI: 10.21122/2220-9506-2026-17-1-54-59

Введение

Тканевое дыхание – это многостадийный биохимический процесс, в ходе которого клетки получают энергию за счёт окисления органических веществ. Данный процесс включает цепь последовательных реакций, катализируемых системой ферментных комплексов, сосредоточенных в митохондриях. Пространственная упорядоченность ферментов, образующих встроенные в липопротеидные мембраны сложные динамические комплексы, служит основой внутримитохондриальной регуляции механизма окислительного фосфорилирования и обеспечивает тесную взаимосвязь между структурой и функцией митохондрий. Сложность ферментных систем, участвующих в окислительном фосфорилировании, и путей регуляции данного процесса обуславливают и многообразие механизмов его нарушения, которые влекут за собой возникновение патологии. Ряд патологических состояний и заболеваний связаны с низкоэнергетическими состояниями, развивающимися из-за митохондриальной дисфункции. Поэтому исследование системы митохондриального окисления актуально для медицины, поскольку даёт понимание механизмов возникающих патологических процессов: гипоксия, метаболические расстройства, митохондриальные заболевания, онкология и др. [1–4].

Исследование процесса тканевого дыхания проводится с помощью различных методов, способствующих оценке активности митохондрий и ферментов митохондриального окисления, уровня потребления кислорода и метаболической активности клеток. Скорость потребления кислорода является интегральным показателем аэробного энергетического метаболизма и наиболее чувствительным параметром системы митохондриального окисления. Определить уровень поглощения кислорода исследуемыми образцами (гомогенаты, клетки, выделенные митохондрии) в реальном времени позволяет полярографический метод [5, 6].

На сегодняшний день известно устройство для измерения поглощения или выделения кислорода *Oxytherm+Chamber*, которое оснащено рабочим и опорным электродами для проведения электрохимических измерений, электронным блоком (контролирует параметры проводимости,

потенциала, тока и других характеристик, необходимых для анализа), камерой (для создания определённых условий окружающей среды), дополнительными датчиками (могут быть установлены для мониторинга и контроля дополнительных параметров, таких как температура, давление и др.). *Oxytherm+Chamber* обеспечивает компьютерное управление измерениями поглощения или выделения кислорода в широком диапазоне исследовательских приложений при содержании кислорода до 100 % [7]. Известно устройство *O2k-FluoRespirometer* для измерения дыхательной активности клеток с использованием техники флуоресцентного анализа. Этот прибор позволяет одновременно измерять потребление кислорода и производство свободных радикалов кислорода в клетках или тканях. *O2k-FluoRespirometer* является важным оборудованием для молекулярной и клеточной биологии, фармакологии, медицинских исследований и других областей науки. *O2k-FluoRespirometer* состоит из стеклянной камеры (размещаются образцы клеток для измерения кислородного потребления и флуоресценции), кислородного электрода, флуоресцентного детектора (для измерения флуоресценции клеток), устройства смешивания и измерения температуры, дополнительных опций [8–10]. Однако, данные устройства имеют высокую стоимость и сложны в использовании.

Целью данной работы являлось совершенствование метода исследования тканевого дыхания биологических образцов посредством разработки и внедрения полярографической ячейки из эпоксидной смолы.

Полярографическая ячейка из эпоксидной смолы

Разработанная полярографическая ячейка из эпоксидной смолы [11] состоит (рисунок 1) из корпуса 1 высотой 7–10 см, внутренней камеры 2 диаметром 1,7 см для введения биологических образцов и веществ. В верхней части корпуса расположено два отверстия разного диаметра. Отверстие с большим диаметром 3 используется для введения биологических образцов и веществ во внутреннюю камеру 2, отверстие 4 с меньшим диаметром используется для свободного выхода измененного объёма жидкости из внутренней камеры 2 полярографической ячейки. В нижней

части корпуса расположена термостатирующая трубка 5 длиной 25–30 см, выполненная из медицинского поливинилхлорида. Концы термостатирующей трубки выведены наружу и используются для присоединения к внешнему контуру водного термостата.

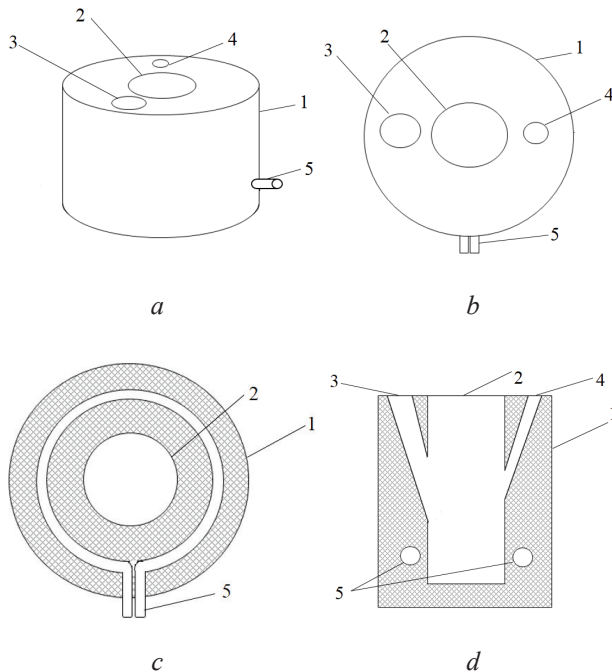


Рисунок 1 – Схема полярографической ячейки: *a* – общий вид; *b* – вид сверху; *c* – вид сверху в разрезе; *d* – вид сбоку в разрезе; 1 – корпус; 2 – внутренняя камера; 3 – отверстие с большим диаметром для введения биологических образцов и веществ во внутреннюю камеру; 4 – отверстие с меньшим диаметром для свободного выхода изменённого объёма жидкости из внутренней камеры; 5 – термостатирующая трубка

Figure 1 – Scheme of a polarographic cell: *a* – general view; *b* – top view; *c* – top view in section; *d* – side view in section; 1 – housing; 2 – inner chamber; 3 – large diameter opening for introducing biological samples and substances into the inner chamber; 4 – smaller diameter opening for free exit of the changed volume of liquid from the inner chamber; 5 – thermostatic tube

Полярографическая ячейка (см. рисунок 2) ставится на магнитную мешалку с добавлением магнита во внутреннюю камеру 2, далее добавляется жидкая среда (буферный раствор) или раствор через отверстие с большим диаметром 3 для введения биологических образцов и веществ, которые попадают в центр внутренней камеры 2. Затем во внутреннюю камеру ставится кислородный электрод,

который присоединяется к многоканальной микроэлектродной установке. После установки электрода добавляется биологический материал через отверстие с большим диаметром 3. К концам термостатирующей трубки 5 присоединяется водный термостат. Величина формирующего электродом тока, пересчитанного на $[O_2]$, выводится в виде графика на экран компьютера 6 через программу «Record 4-usb». После проведения исследования жидкость с кусочками тканей удаляется (выливается), ячейка промывается и высушивается.

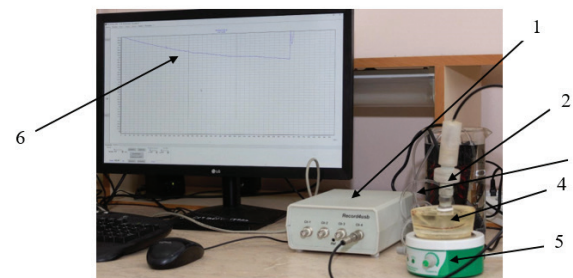


Рисунок 2 – Полярографическая ячейка в работе: 1 – микроэлектродная установка; 2 – электрод Кларка; 3 – термостатирующая трубка; 4 – полярографическая ячейка; 5 – магнитная мешалка; 6 – кривая скорости поглощения кислорода

Figure 2 – The polarographic cell in operation: 1 – microelectrode setup; 2 – Clark electrode; 3 – thermostatic tube; 4 – polarographic cell; 5 – magnetic stirrer; 6 – oxygen absorption rate curve

В рамках проведения пилотных исследований по оценке эксплуатационных свойств новой полярографической ячейки из эпоксидной смолы проведено изучение скорости потребления кислорода тканевыми фрагментами тонкого кишечника интактных мышей с использованием разобщителя окислительного фосфорилирования – 2,4-динитрофенола [12]. Благодаря использованию 2,4-динитрофенола возможно исследовать работу комплексов электрон-транспортной цепи митохондрий, оценить интактность митохондрий и косвенно отследить работу установки. Полученные кинетические кривые (рисунок 3), отражающие скорость потребления кислорода фрагментами исследуемой ткани, сопоставимы с типичными полярографическими кривыми поглощения кислорода, описанными в классических руководствах.

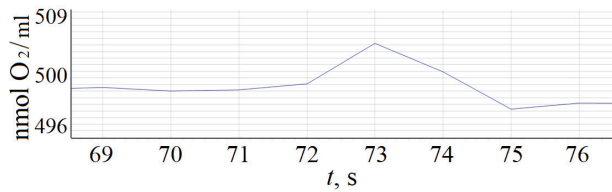


Рисунок 3 – Кривая скорости поглощения кислорода тканью после добавления разобщителя 2,4-динитрофенола (по оси абсцисс – время в секундах, по оси ординат – количество поглощённого кислорода в нмоль O₂/мл)

Figure 3 – Oxygen uptake rate curve after addition of the uncoupler 2,4-dinitrophenol (x-axis: time in seconds; y-axis: amount of oxygen absorbed in nmol O₂/ml)

При добавлении в полярографическую ячейку с исследуемыми образцами разобщителя окислительного фосфорилирования – 2,4-динитрофенола – наблюдается увеличение скорости потребления кислорода (рисунок 3), регистрируемое микроэлектродной установкой, что дополнительно подтверждает адекватность работы всего устройства.

Разработанная полярографическая ячейка обладает термостойкостью, сохраняет свои свойства и структуру при высоких температурах, поскольку эпоксидная смола обладает высокой устойчивостью к химическим веществам, хорошими электрическими изоляционными свойствами, имеет отличную прочность на изгиб и ударопрочность, что делает полярографическую ячейку из неё долговечной и устойчивой к механическим воздействиям. Она может выдерживать требуемые нагрузки без деформации или повреждения, отличается экологичностью и безопасностью. Простота конструкции ячейки облегчает её производство, обслуживание и использование, а возможность интеграции с многоканальными электрохимическими системами расширяет её функциональность. Подобная конструкция может быть использована для проведения биохимических исследований с целью изучения работы митохондриальных комплексов и оценки окислительного фосфорилирования под влиянием факторов внешней и внутренней среды. В медицинских исследованиях – в качестве инструмента диагностики патологий, связанных с нарушениями клеточного дыхания, а также влияния фармакологических препаратов на энергетическую функцию объекта исследования. Может также применяться

для фундаментальных исследований в области электрохимии, включая изучение кинетики химических реакций. В аналитических лабораториях для количественного и качественного анализа различных ионов и биомолекул в растворах. В учебных студенческих научно-исследовательских лабораториях полярографический метод может быть использован для подготовки специалистов в области биохимии, биофизики и молекулярной биологии.

Заключение

Разработана и внедрена в практику лабораторных исследований полярографическая ячейка для исследования тканевого дыхания.

Установлено и подтверждено экспериментально, что разработанная модель полярографической ячейки является эффективной при проведении исследований тканевого дыхания биологических образцов. Количественная работоспособность устройства подтверждена в ходе пилотных экспериментов: зарегистрированы типичные кинетические кривые поглощения кислорода тканевыми фрагментами тонкого кишечника интактных мышей, а добавление разобщителя окислительного фосфорилирования – 2,4-динитрофенола – закономерно приводило к увеличению скорости потребления O₂, что демонстрирует адекватность работы ячейки при оценке функционального состояния митохондриальной электрон-транспортной цепи исследуемых образцов.

Подробно описаны разработанная модель и методика работы с ячейкой, включая её установку на магнитную мешалку, введение буферной среды и исследуемых образцов, подключение кислородного электрода (Кларка) и термостата.

Предложенная конструкция ячейки отличается от коммерческих аналогов (например, *Oxitherm+Chamber* и *O2k-FluoRespirometer*) более низкой себестоимостью изготовления, простотой эксплуатации и обслуживания. По предварительным оценкам стоимость разработанной ячейки на несколько порядков ниже, чем коммерческие аналоги. Эпоксидная смола является недорогим, универсальным и эффективным материалом для производства, поэтому полярографическая ячейка на её основе является более доступной по цене в сравнении с другими материалами.

Таким образом, разработанная полярографическая ячейка позволяет значительно удешевить исследования тканевого дыхания без потери точности измерений. Применение данного устройства расширит доступность методики в медицинских и научных учреждениях, а также будет способствовать улучшению диагностических и фармакологических исследований. Простота эксплуатации, низкая стоимость и высокая воспроизводимость данных делают предложенную ячейку перспективным инструментом для фундаментальных и прикладных исследований в биомедицине.

Список использованных источников / References

1. Peterlin AD, Johnson JM, Funai K. Assessment of Bioenergetics in BAT Mitochondria. *Methods Mol Biol.* 2023;2662:67-75. DOI: 10.1007/978-1-0716-3167-6_6
2. Liang T, Dunn J, Zou X, Nayak B, Ikeno Y, Fan L, Bai Y. Characterizing the Electron Transport Chain: Functional Approach Using Extracellular Flux Analyzer on Mouse Tissue Samples. *Methods Mol Biol.* 2022;2497:117-128. DOI: 10.1007/978-1-0716-2309-1_8
3. Vial G, Guigas B. Assessing Mitochondrial Bioenergetics by Respirometry in Cells or Isolated Organelles. *Methods Mol Biol.* 2018;1732:273-287. DOI: 10.1007/978-1-4939-7598-3_18
4. Peterlin AD, Johnson JM, Funai K. Assessment of Bioenergetics in BAT Mitochondria. *Methods Mol Biol.* 2023;2662:67-75. DOI: 10.1007/978-1-0716-3167-6_6
5. Roussakis E, Li Z, Nichols AJ, Evans CL. Oxygen-Sensing Methods in Biomedicine from the Macroscale to the Microscale. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2015;54(29):8340-62. DOI: 10.1002/anie.201410646
6. Bernasconi S, Angelucci A, De Cesari A, Masotti A, Pandocchi M, Vacca F, Zhao X, Paganelli C, Aliverti A. Recent Technologies for Transcutaneous Oxygen and Carbon Dioxide Monitoring. *Diagnostics (Basel).* 2024;14(8):785. DOI: 10.3390/diagnostics14080785
7. Oxitherm+Chamber // Hansatech Instruments URL: <https://www.hansatech-instruments.com/product/oxytherm-system/> (date of access: 10.04.2025)
8. Long Q, Huang L, Huang K, Yang Q. Assessing Mitochondrial Bioenergetics in Isolated Mitochondria from Mouse Heart Tissues Using Oroboros 2k-Oxygraph. *Methods Mol Biol.* 2019;1966:237-246. DOI: 10.1007/978-1-4939-9195-2_19
9. Hall A, Moghimi SM. Determination of Polycation-Mediated Perturbation of Mitochondrial Respiration in Intact Cells by High-Resolution Respirometry (Oxygraph-2k, OROBOROS). *Methods Mol Biol.* 2019;1943:313-322. DOI: 10.1007/978-1-4939-9092-4_20
10. Erich Gnaiger1, Timea Komlódi1, Sabine Schmitt1, Cristiane Cecatto1, Lukas Gradl, Philipp Gradl O2k-Manual: O2k-FluoRespirometer. Oroboros Ecosystem Mitochondrial Physiology Network. 2023;22.11(11):1-16.
11. Патент на полезную модель № 13547 Беларусь. Полярографическая ячейка из эпоксидной смолы : заявл. 23.05.2024: опубл. 05.09.2024 / А.Н. Коваль, Е.М. Белоус, Н.С. Мышковец ; заявитель Гомельский государственный медицинский университет.
11. Patent of the Republic of Belarus for utility model No. 13547. Polarographic cell made of epoxy resin : application dated 05/23/2024 : published 05/9/2024 / A.N. Koval, E.M. Belous, N.S. Myshkovets; applicant Gomel State Medical University. (In Russ.).
12. Белоус Е.М., Логвинович О.С. Тканевое дыхание фрагментов тонкого кишечника мышей. Актуальные проблемы общей и клинической биохимии. Сборник материалов республиканской научно-практической конференции, Гродно, 27 июня 2025 года. – Гродно: Гродненский государственный медицинский университет, 2025:196-200.
12. Belous E.M, Logvinovich OS. Tissue respiration of fragments of the small intestine of mice // Actual problems of general and clinical biochemistry. – 2025: collection of materials of the Republican scientific and practical conference, Grodno, June 27, Grodno: Grodno State Medical University. 2025;196-200.