

УДК 535.4:53.047:576.3:616-71

ЭФФЕКТ УМЕНЬШЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЛЮКОЗЫ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПОСЛЕ НАСЫЩЕНИЯ КРОВИ КИСЛОРОДОМ

Г. В. Зайцева¹, А. Р. Зарицкий¹, М. Н. Кириченко¹, М. А. Краснова¹,
А. В. Крайский¹, В. А. Постников², М. А. Шевченко¹

Экспериментально обнаружено, что после насыщения венозной крови кислородом (процесс оксигенации) происходит уменьшение концентрации глюкозы в плазме крови. Этот эффект был зарегистрирован для нескольких десятков проб донорской крови с помощью портативных глюкометров "IME-DC" (Германия) и "Optium Omega" (США), а также с помощью не зависящего от присутствия кислорода в плазме оптического метода, использующего голографические сенсоры на основе полимерных пленок из гидрогеля. При оксигенации крови в организме идет перераспределение глюкозы между плазмой крови и цитоплазмой эритроцитов в пользу цитоплазмы. Наблюдаемый эффект объясняется возрастанием при оксигенации крови электрического поля в липидах цитоплазматической мембраны эритроцита, которое ориентирует по нормали к поверхности мембраны диполи молекул глюкозы, имеющие асимметричную форму. Это приводит к асимметрии проницаемости мембраны эритроцита.

Ключевые слова: глюкоза, эритроциты, оксигенация, цитоплазматическая мембрана, асимметрия проницаемости.

Введение. Глюкоза является главным энергоемким субстратом (среди сахаров), обеспечивающим процессы углеводного обмена всех клеток многоклеточного организма. Концентрация глюкозы в плазме крови в норме поддерживается на постоянном уровне

¹ ФИАН, 119991 Россия, Москва, Ленинский пр-т, 53; e-mail: maslovamarina87@gmail.ru.

² ФКНЦ физико-химической медицины, ФМБА России, Москва, ул. Малая Пироговская, 1а.

за счет обмена этим субстратом как с цитоплазмой эритроцитов, так и с внешней по отношению к крови средой. В работах [1–3] показано, что при оксигенации крови *in vivo* проницаемость цитоплазматической мембраны эритроцита для кислорода меняется существенным образом. Поскольку проницаемость мембраны неспецифична, то ее изменение влияет на скорость обмена субстратами, проходящими через мембрану, а также на установление их равновесных концентраций после кислородного обмена. Поэтому вызывает интерес вопрос об особенностях трансмембранного транспорта глюкозы в эритроцитах при оксигенации.

Целью данной работы является исследование изменений концентрации глюкозы в плазме крови *in vitro* после насыщения крови кислородом с помощью электронных глюкометров и не зависящего от присутствия кислорода в плазме оптического метода, а также попытка объяснить полученные в экспериментах результаты.

Материалы и методы. Всего в работе было исследовано около 30 проб донорской крови: часть проб была приготовлена из цельной венозной крови (здоровых и диабетиков) с добавлением антикоагулянта ЭДТА-К2 или гепарина, другая часть – из консервированной эритроцитарной массы с добавлением 3.8%-раствора цитрата натрия. В последнем случае в пробы крови помимо антикоагулянта добавлялся изотонический раствор Рингера для уменьшения показателя гематокрита примерно до 40–45%.

В ходе экспериментов в пробах крови измерялись следующие характеристики: 1) показатель гематокрита Ht (доля от общего объема крови, которую составляют эритроциты) измерялся с помощью центрифуги “СМ-70 Sky Line” (Elmi, Латвия) с частотой вращения 7000 об/мин; 2) уровень кислотности pH – с помощью pH-метра “Cheker” (Германия); 3) концентрация глюкозы в плазме крови n_{gl} – с помощью одного из двух электронных глюкометров “IME-DC” (в основе тест-полосок фермент GOD) или “Optium Omega” (в основе тест-полосок фермент GDH-PQQ), а также с помощью метода, основанного на оптических свойствах гидрогелевых пленок [4, 5]; 4) степень насыщения крови кислородом (α) – с помощью созданного в ФИАНе прибора “КИНОКС” [3].

Так как концентрация кислорода в плазме крови и другие факторы могут в той или иной степени влиять на показания электронных глюкометров [6–8], для ряда проб крови был проведен проверочный эксперимент, где уровень глюкозы до и после оксигенации измерялся оптическим методом с высокой точностью. Этот метод использует голографические сенсоры на основе полимерных пленок из гидрогеля, и его результаты не зависят от присутствия кислорода в плазме крови [4, 5]. Для получения образцов плазмы использовалась лабораторная центрифуга “ЦЛК-1” с частотой вращения

3000 об/мин. Перед измерением образец (объемом не менее 300 мкл) проходил процедуру пробоподготовки, в процессе которой плазма разводилась в 15–20 раз [5]. Время измерения одного образца составляло 10–15 минут.

Процесс насыщения проб крови кислородом осуществлялся с помощью прибора “КИ-НОКС” [3]. Для этого от каждой пробы с помощью шприца отбиралось по 1 мл крови. Этот объем помещался в одну из кювет прибора для оксигенации. Время оксигенации составляло 7–10 минут. Сразу после процесса оксигенации для каждой пробы измерялся уровень глюкозы в плазме насыщенной кислородом крови (n_{oxy}), взятой непосредственно из кюветы прибора (табл. 1). На основе полученных значений определялась величина разности концентраций глюкозы до и после оксигенации $\Delta n = n_0 - n_{oxy}$ (табл. 1).

Т а б л и ц а 1

Результаты измерений десяти выборочных проб крови: гематокрит крови $\langle Ht \rangle$, показатель кислотности в плазме крови pH, концентрации глюкозы в плазме крови до и после оксигенации $\langle n_0 \rangle$ и $\langle n_{oxy} \rangle$, и их разность $\Delta n = \langle n_0 \rangle - \langle n_{oxy} \rangle$. Точности измерения указанных величин указаны в верхней строке таблицы

№ пробы	Характеристика пробы крови	$\langle Ht \rangle$, % $\Delta = 0.5\%$	pH, $\Delta = 0.01$	$\langle n_0 \rangle$, ммоль/л $\Delta = 0.3$ ммоль/л	$\langle n_{oxy} \rangle$, ммоль/л $\Delta = 0.3$ ммоль/л	$\Delta n = \langle n_0 \rangle - \langle n_{oxy} \rangle$, ммоль/л
1	Цельная кровь	41.7	7.52	12.05	10.60	1.45
2	Цельная кровь	46.0	7.39	15.40	14.15	1.25
3	Цельная кровь	40.4	7.64	7.80	6.90	0.90
4	Цельная кровь	38.0	7.43	4.33	3.65	0.68
5	Цельная кровь	49.1	7.37	3.85	3.25	0.60
6	Цельная кровь	35.9	7.42	6.85	6.35	0.50
7	Эр. масса	48.7	6.93	14.40	11.40	3.00
8	Эр. масса	48.3	6.87	13.65	11.90	1.75
9	Эр. масса	42.1	6.85	16.55	15.60	0.95
10	Эр. масса	48.0	6.89	6.80	6.20	0.60

Результаты измерения равновесной концентрации глюкозы в плазме крови с помощью глюкометров. Принцип действия глюкометров “IME-DC” и “Optium Omega” основан на химическом взаимодействии молекул фермента в составе тест-полосок с молекулами глюкозы, в результате которого возникает электрический ток, регистрируемый приборами. В табл. 1 приведены результаты измерений с помощью этих глюкометров для десяти выборочных проб крови, шесть из которых были приготовлены из цельной венозной крови, а четыре – из эритроцитарной массы. Для каждой пробы делалась серия измерений величины n_0 , после чего находилось ее среднее арифметическое $\langle n_{гл} \rangle$.

Погрешность одного измерения $\langle n_{\text{гг}} \rangle$ составляла 0.3 ммоль/л. Величины $\langle Ht \rangle$ и рН, повторно определенные для ряда проб крови после оксигенации, с точностью до экспериментальной ошибки измерений совпадали с исходными значениями этих величин, поэтому в табл. 1 они не представлены.

Из табл. 1 видно, что во всех пробах после их оксигенации концентрация глюкозы в плазме крови уменьшалась на величину Δn – от нескольких десятых до нескольких единиц ммоль/л. Эти результаты были проверены независимым методом, поскольку, согласно работам [6–8], на точность измерения электронных глюкометров могут влиять в той или иной степени различные факторы, включая изменение концентрации кислорода в плазме крови.

Определение концентрации глюкозы с помощью метода, основанного на работе голографических сенсоров. Для проверки полученных с помощью глюкометров данных были проведены дополнительные измерения концентрации глюкозы в образцах плазмы цельной крови с помощью оптического метода высокой точности, с использованием голографических сенсоров [4, 5]. Точность измерений этим методом составляла не менее 0.02 ммоль/л. Всего было измерено четыре образца плазмы: в первых двух образцах плазма отбиралась из пары проб венозной и оксигенированной крови, отцентрифугированных при 3000 об/мин в течение 10 минут; в двух других образцах плазма также отбиралась из пары проб венозной и оксигенированной крови, но отстоянных в течение часа в условиях естественного оседания эритроцитов. Результаты эксперимента, представленные в табл. 2, подтвердили уменьшение концентрации глюкозы в плазме крови при оксигенации проб.

Обсуждение результатов. В настоящей работе был обнаружен эффект уменьшения концентрации глюкозы в плазме крови после оксигенации проб. Этот эффект не может быть объяснен внутриклеточным потреблением глюкозы, так как время между измерением ее концентрации до и после оксигенации не превышало 10 минут. За это время убыль глюкозы из плазмы за счет внутриклеточного поглощения ее клетками крови составляла не более 1%. Для объяснения наблюдаемого эффекта нами выдвигается гипотеза, в основе которой лежит физическая модель асимметрии проницаемости мембраны эритроцита, наведенной электрическим полем, для молекул, имеющих форму стрелы и дипольный момент, направленный вдоль оси стрелы. К таким молекулам относится молекула глюкозы *D*-формы, дипольный момент которой равен 14.1 *D* (именно в *D*-форме глюкоза содержится во всех живых организмах). Электрическое поле в липидах мембраны ориентирует молекулы *D*-глюкозы таким образом, что для

них вход в мембрану со стороны плазмы и их прохождение через липиды в цитоплазму облегчены по сравнению с выходом из эритроцита. В организме асимметрия проницаемости цитомембран реализуется, по-видимому, во всех клетках. В эритроцитах данный эффект асимметрии удалось обнаружить для глюкозы при оксигенации крови, когда напряженность поля в мембране возрастает в результате десорбции адсорбированного на мембране гемоглобина [1–3]. Из-за усиления поля в липидах увеличивается разность в проницаемостях мембраны в направлениях “извне в клетку” и “из клетки наружу”. Поэтому в плазме оксигенированной крови равновесная концентрация глюкозы устанавливается на новом более низком уровне, что и наблюдалось в экспериментах.

Т а б л и ц а 2

Результаты измерений четырех образцов плазмы крови с помощью оптического метода

№ образца	Характеристика образца	$\langle n_{\text{гл}} \rangle$, ммоль/л $\Delta = 0.02$ ммоль/л	$\Delta n = \langle n_0 \rangle - \langle n_{\text{oxy}} \rangle$, ммоль/л
1	Плазма из отцентрифугированной пробы венозной крови $\langle n_0 \rangle$	5.43	0.74
2	Плазма из отцентрифугированной пробы оксигенированной крови $\langle n_{\text{oxy}} \rangle$	4.69	
3	Плазма из отстоянной пробы венозной крови $\langle n_0 \rangle$	4.78	0.54
4	Плазма из отстоянной пробы оксигенированной крови $\langle n_{\text{oxy}} \rangle$	4.24	

Заключение. В настоящей работе представлены данные о перераспределении глюкозы между плазмой крови и цитоплазмой эритроцитов после насыщения проб донорской крови кислородом. Обнаружен эффект уменьшения концентрации глюкозы в плазме после оксигенации проб, и дано его объяснение. Этот эффект был впервые зарегистрирован с помощью портативных глюкометров и не зависящего от присутствия кислорода оптического метода, основанного на голографических сенсорах. Очевидна биологическая целесообразность данного эффекта, поскольку он способствует интенсификации энергетического метаболизма всех клеток, в том числе и эритроцитов, за счет увеличения в их цитоплазме концентрации глюкозы по сравнению с окружающей средой.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- [1] М. В. Фок, А. Р. Зарицкий, *Авторегуляция, как основа гомеостаза клеток* (М., Космосинформ, 1997).
- [2] М. В. Фок, А. Р. Зарицкий, Г. А. Зарицкая, Е. В. Переведенцева, *Авторегуляция неспецифической проницаемости мембраны эритроцита* (М., Наука, 1999), 77 с.
- [3] М. В. Фок, *Некоторые аспекты биохимической физики, важные для медицины* (М., Физматлит, 2007).
- [4] А. В. Крайский, В. А. Постников, Т. Т. Султанов, А. В. Хамидулин, *Квантовая электроника* **40**(2), 178 (2010).
- [5] В. А. Постников, В. Е. Тихонов, А. В. Крайский и др., *Известия ВУЗ'ов ФИЗИКА* **58**(11/3), 58 (2015).
- [6] Ю. А. Редькин, В. В. Богомолов, А. В. Древаль, *Consilium medicum* **13**(12), 54 (2011).
- [7] Z. Tang, R. F. Louie, J. H. Lee, et al., *Critical Care Medicine* **29**(5), 1062 (2001).
- [8] В. Н. Ginsberg, *Diabetes Technology Society* **3**(4), 903 (2009).

Поступила в редакцию 15 июня 2016 г.