

02;03;12

Термостимулированная деполяризация крови человека

© Л.С. Пинчук, А.Г. Кравцов, С.В. Зотов

Институт механики металлополимерных систем им. В.А. Белого НАН Белоруссии,
246050 Гомель, Белоруссия
e-mail: kravtsovag@usa.net

(Поступило в Редакцию 27 марта 2000 г.)

Исследованы спектры термостимулированных токов препаратов крови человека. Предложена интерпретация электретного эффекта в крови, основанная на фундаментальных представлениях об электретном состоянии вещества и электрической поляризации биополимеров. Высказано предположение, что закономерности проявления электретного эффекта крови связаны с биологическими циклами организма и протекающими в нем биохимическими процессами. Отмечена пригодность и информативность метода термостимулированных токов как экспресс-метода диагностики биологических объектов.

Введение

Способность веществ сохранять электрически поляризованное состояние после снятия внешнего воздействия, вызвавшего поляризацию, и создавать электрическое поле в окружающем пространстве — электретный эффект является фундаментальным свойством как неживой, так и живой материи [1]. К настоящему времени этот эффект зафиксирован во многих веществах и объектах биологического происхождения [1–3], и логично предполагать его важную роль в процессах жизнедеятельности биологических систем. Очевидно, что при исследовании биомедицинских объектов рассмотрение электретных свойств живых тканей представляется интересным, полезным и необходимым.

Впервые представления о сущности электрических явлений в биологических объектах были выдвинуты в середине XIX века Э. Дюбуа-Реймоном, который предложил гипотезу, известную под названием электромолекулярной теории [2]. Более 90% живого вещества состоит из полярных молекул белков, нуклеиновых кислот, липидов, жиров, углеводов и воды, т.е. связанных электрических зарядов (диполей). Главная идея теории Дюбуа-Реймона заключалась в том, что ведущую роль в биологическом электрогенезе играет динамика полярных групп, входящих в состав перечисленных молекул. К 70-м годам XX века были установлены две фундаментальные закономерности живой материи: естественная электрическая поляризация как универсальное свойство живых тканей и наличие квазиполярного биоэлектрического поля [1–3]. В настоящее время назрела необходимость всестороннего изучения биоэлектретного эффекта с привлечением современных физических методов исследования и выработанных теоретической физикой представлений об электретном состоянии.

Наиболее эффективным способом исследования зарядового состояния диэлектриков является метод термостимулированной деполяризации, или определения термостимулированных токов (ТСТ). Сущность метода довольно полно отражена в термине "термостимулированный разряд" и заключается в изучении релаксации

заряда, обуславливающего электретное состояние. Поскольку релаксация заряда при комнатной температуре представляет собой весьма длительный процесс, то применяют термическую стимуляцию разряда электрета при постоянной скорости нагрева. Для этого образец помещают между двумя электродами, нагревают с некоторой линейной скоростью и фиксируют протекающий в цепи ток. График тока в функции температуры представляет собой спектр термостимулированных токов, по характеру которого судят о механизмах, ответственных за проявление электретного эффекта. Преимуществом выбранного метода является высокая чувствительность и разрешающая способность, а также возможность проследить релаксационные процессы в веществе, находящемся в различных фазовых состояниях, с регистрацией температур перехода между ними.

В последнее время наметилась тенденция к универсализации метода термостимулированных токов деполяризации и расширению области его применения. В частности, известны способы ТСТ диагностики пищевых продуктов [4], проведено изучение деполяризации коллагена, гемоглобина, миоглобина [1,5,6] и т.д. Именно с помощью данного метода установлено, что электретный эффект является общим свойством полипептидов, полинуклеотидов и полисахаридов [7–9].

Проявления электретного эффекта в тканях человеческого тела в отличие от электрической поляризации индивидуальных химических соединений имеет более сложный характер и представляет значительно больший практический интерес. Есть все основания полагать, что параметры этого эффекта определенным образом меняются при изменении условий жизнедеятельности организма [9]. Особенно это должно отражаться на электрофизических свойствах такого важнейшего компонента организма человека, как кровь.

Цель настоящей работы — применить метод термостимулированных токов для исследования электретных свойств крови, взятых у людей с различными группами крови, и провести интерпретацию полученных результатов с позиций фундаментальных представлений об электретном эффекте.

Методы исследования

В экспериментах использовали периферическую кровь I–IV групп, взятую у доноров с положительным резус-фактором. Проводили 5-кратный (с интервалом 1–2 h в течение суток) забор крови у каждого донора. Пробу крови (1 ml) помещали в промытый этиловым спиртом алюминиевый электрод и накрывали стерильной тефлоновой прокладкой, на которую накладывали второй электрод. Регистрировали ток, который возникает в цепи, замыкающей электроды, при нагревании образца со скоростью $5^\circ\text{C}/\text{min}$ (схема измерительной ячейки приведена на рис. 1). Для точного определения энергий активации процессов релаксации поляризационного заряда, соответствующих пикам на спектрах термостимулированных токов, использовали метод термоочистки [10]. Образец нагревали с постоянной скоростью, прописывая первый пик, а затем быстро охлаждали до комнатной температуры. После повторного нагревания регистрировали следующий пик при более высокой температуре и т.д. Методом Гарлика–Гибсона [10] — по начальному участку подъема кривой $I(T)$ к максимуму определяли энергию активации, соответствующую исследуемому пику.

Результаты и их обсуждение

Все исследованные препараты крови дают три основных экстремальных участка на спектре термостимулированных токов (рис. 2). В низкотемпературной области ($T_{\text{max}} = 40\text{--}50^\circ\text{C}$) имеется пологий пик релаксации отрицательного заряда. Известно [1], что низкотемпературный пик при деполяризации таких веществ, как коллаген и гемоглобин, обусловлен так называемой связанной водой. Кровь человека представляет собой многокомпонентную систему, состоящую из плазмы (водный раствор минеральных солей, аминокислот, белков, стероидных соединений, ферментов и др.) и клеток крови (эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов) [11]. Эри-

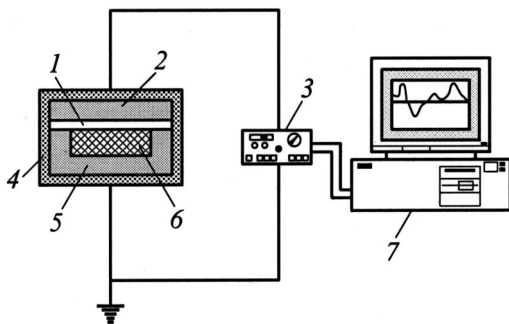


Рис. 1. Схема измерительной системы для регистрации и записи термостимулированных токов: 1 — тефлоновая прокладка, 2 — верхний электрод (Al), 3 — усилитель-преобразователь, 4 — разборный экран, 5 — нижний электрод (Al), 6 — образец крови, 7 — персональный компьютер со специализированным программным обеспечением.

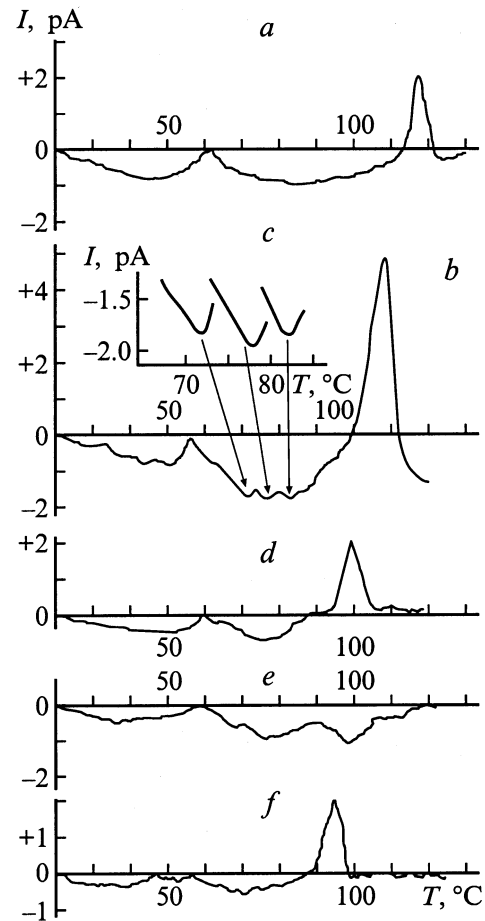


Рис. 2. Спектры термостимулированных токов крови человека разных групп: *a* — I; *b, c* — II; *d, e* — III с высокотемпературными пиками разной полярности; *f* — IV.

троциты — красные кровяные клетки, представляющие собой заключенный в липидную оболочку гемоглобин и другие вещества, ответственные за транспорт кислорода в организме, составляют около 45% весового состава крови. Химическая структура индивидуальных аминокислот, белков и липидов (изобилие полярных групп NH, CO, OH) обуславливает большую гидрофильность компонентов крови и, как следствие, наличие вокруг большинства из них гидратных оболочек [1,12]. Таким образом, можно ожидать, что в крови часть воды находится в связанном (структурированном) состоянии за счет образования водородных связей с полярными фрагментами различных органических молекул. Указанный характер взаимосвязи компонентов должен придавать им дополнительный дипольный момент, а поскольку энергия дипольных молекул воды зависит от их ориентации, это порождает электретный эффект. Термически стимулированное разрушение таких координированных структур в сущности представляет собой разупорядочение диполей. По-видимому, слабый низкотемпературный пик ТСТ отвечает подобному разупорядочению. Энергия активации процесса релаксации заряда, соответствующего этому

пику, составляет $W_1 = 0.45 \text{ eV}$. Известно, что средняя величина энергии водородной связи колеблется в пределах от 0.10 до 0.25 eV [13]. При наличии в крови органических соединений со сложной пространственной конфигурацией, содержащих полярные группы, можно предполагать связывание молекул воды в координированные структуры с несколько большими энергиями связей.

Полученные результаты косвенно подтверждают данные о том, что в биополимерах связанная вода может находиться в электретьном состоянии [1,14].

В среднетемпературной области ($T_{\max} = 70\text{--}90^\circ\text{C}$) имеется экстремальная область, представляющая собой комбинацию (наложение) нескольких пиков с интенсивностью в несколько раз выше низкотемпературного. Это свидетельствует о том, что в указанном диапазоне температур происходят разрушения нескольких координированных структур и релаксация диполей, находившихся в связанном состоянии при сравнительно больших энергиях связи. На наш взгляд, среднетемпературный пик может отвечать тепловой денатурации белковых соединений крови — необратимому изменению структуры белков без разрыва полипептидной цепи. Известно, что вторичная структура белков образована внутримолекулярными водородными связями, а третичная — главным образом ван-дер-ваальсовыми силами [13]. Вклад в денатурацию белковых соединений крови вносит тепловая релаксация зарядов ионизированных и протонированных групп, ответственных за электростатическое притяжение фрагментов белковой молекулы, а также ван-дер-ваальсовых взаимодействий [15]. Волнистый профиль, т.е. комбинированный характер среднетемпературного пика на рис. 2, *b*, подтвержденный термоочисткой (*c*), по-видимому, отвечает трем энергиям связей (в диапазоне $W_2 = 0.5\text{--}0.7 \text{ eV}$), ответственных за поляризацию белковых структур крови II группы.

В высокотемпературной области проявляется самый интенсивный пик ($T_{\max} = 105\text{--}120^\circ\text{C}$). При данной температуре закономерно ожидать фазовый переход с образованием сгустка спекшейся крови — тромбоподобной массы. Интенсивная термоокислительная деструкция входящих в состав крови органических соединений сопровождается слипанием липидных оболочек эритроцитов, денатурированных белков, осколков полипептидных цепей и т.д. Термораспад вновь образованных структур обуславливает релаксацию их поляризационного заряда, существенный вклад в формирование которого вносит поляризация Максвелла–Вагнера [1].

При схожем характере спектров термостимулированных токов разных групп крови обращает на себя внимание то, что некоторые пики сдвигаются по температурной шкале, меняют свою интенсивность и даже полярность (рис. 2, *a-f*). Закодирован сдвиг максимально высокотемпературного пика в область низких температур в ряду I–IV группы крови. Положение \max соответствует $115\text{--}118^\circ\text{C}$ (I группа), $108\text{--}110^\circ\text{C}$ (II), $98\text{--}100^\circ\text{C}$ (III), $95\text{--}97^\circ\text{C}$ (IV).

Данные эффекты, по-видимому, соответствуют определенным жизненным циклам организма. Обратимые биохимические процессы протекают в крови с участием положительных и отрицательных ионов, а также с образованием положительных и отрицательных потенциалов в двойном электрическом слое, окружающем клетки крови [16]. В зависимости от физиологических факторов (кровяное давление, физическая активность, наличие в организме стимуляторов и т.п.) можно ожидать изменения концентраций различных ионов во времени, колебания в распределении потенциалов и соответственно изменения параметров, характеризующих электретьный эффект. Ослабление интенсивности пиков может также свидетельствовать об изменении дипольных моментов компонентом крови вследствие колебания ряда биохимических реакций вблизи положения равновесия. Отмечено не поддающееся пока однозначной интерпретации изменение полярности высокотемпературного пика на спектрах ТСТ проб крови, взятых в течение дня у одного и того же донора (рис. 2, *d, e*). При этом изменение интенсивности и полярности пиков на спектрах термостимулированных токов в каждом отдельном эксперименте носит индивидуальный характер.

Выводы

Таким образом, применение термостимулированной деполяризации позволило получить интересную информацию о таком важном биологическом объекте, как кровь. С помощью метода термостимулированных токов установлено, что кровь человека проявляет электретьный эффект, обусловленный координационной природой надмолекулярной структуры ее компонентов. Предлагаемая авторами интерпретация этого эффекта основана на способности сложных органических молекул, в том числе биополимеров, проявлять электретьные свойства за счет особенностей их химического строения как комплексных соединений. Полученные данные, по-видимому, могут свидетельствовать, что электретьный эффект крови является как функцией, так и фактором инициирования биохимических процессов в организме человека.

На наш взгляд, метод термостимулированных токов может стать несложным и достаточно информативным инструментом для диагностики крови. Это станет возможным с дальнейшим накоплением экспериментального материала и, очевидно, после выполнения комплекса медико-физических исследований специалистами гематологии, кардиологии, физики, физической и биологической химии и др. В этой связи авторы видят своей дальнейшей задачей более точное установление ряда закономерностей и выяснение характера зависимости параметров, характеризующих электретьный эффект, от условий жизнедеятельности донора, резус-фактора, группы крови, пола, возраста и др., что представляет большой практический интерес.

Авторы выражают благодарность сотрудникам Института механики металлополимерных систем НАН Белорусии Г.Н. Томиной и В.А. Шаповалову за помощь в проведении исследований и обсуждении результатов данной работы.

Список литературы

- [1] Electrets / Ed. by G.M. Sessler. Vol. 1. Morganhill (Ca), 1999. 431 p.
- [2] Лакомкин А.И., Мягков И.Ф. Электрофизиология. М.: Химия, 1977.
- [3] Кулин Е.Т. Биоэлектретный эффект. Минск: Наука и техника, 1980. 216 с.
- [4] Marc Galop. <http://www.file:///ftpfiller/1/food/htm>.
- [5] Bridelli M.G., Capeletti R., Losi S. et al. // Proc. 8th Intern. Symposium on Electrets. Paris, 1994. P. 864–874.
- [6] Capeletti R., Bridelli M.G. // Proc. 10th Intern. Symposium on Electrets. Delphi–Athens, 1999. P. 213–216.
- [7] Mascarenhas S. // J. Electrostatics. 1975. Vol. 1. P. 141.
- [8] Reiche A., Nedeskam N., Mayer A. // J. Phys. Chem. 1970. Vol. 74. P. 2659.
- [9] Mascarenhas S. // Ann. Acad. Sci. New York, 1974. Vol. 238. P. 36–42.
- [10] Van Turnhout I. Thermally Discharge of Polymer Electrets. Amsterdam: Elsevier, 1975. 210 p.
- [11] Физиология человека / Под ред. Г.И. Косицкого. 3-е изд. М.: Медицина, 1979.
- [12] Степанов В.М. Молекулярная биология. Структура и функция белков / Под ред. А.С. Спирина. М.: Высшая школа, 1996. 335 с.
- [13] Hauptmann S., Graefe J., Remane H. Lehrbuch der Organischen Chemie. Leipzig: VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, 1976.
- [14] Tomaselli V., Shamos M. // Biopolymers. 1973. Vol. 12. P. 353.
- [15] Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. 2-е изд. М.: Высшая школа, 1998. 479 с.
- [16] Макаревич А.В., Пинчук Л.С., Гольдаде В.А. Электрические поля и электроактивные материалы в биологии медицины. Гомель: ИММС НАНБ, 1998, 106 с.