DOI: 10.33667/2078-5631-2020-5-25–27

Влияние эндогенных факторов на уровень концентрации глюкозы в пробах крови пациентов различных возрастных групп

Д. П. Пискунов, аспирант[1], врач отдела биохимических исследований КДЛ[3]
Л. А. Данилова, д.м.н., проф., зав. кафедрой биохимии[1]
Л. В. Борисова, врач отдела клинических исследований КДЛ[3]
А. С. Пушкин, к.м.н., доцент[2], зав. отделом экстренных исследований КДЛ[3]
Т. А. Ахмедов, к.м.н., доцент[2], зав. отделом иммунологических исследований КДЛ[3]
В. Л. Эмануэль, д.м.н., проф. зав. кафедрой клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины[2]

[1]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, г. Санкт-Петербург
[2]ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Минздрава России, г. Санкт-Петербург
[3]СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», г. Санкт-Петербург

Influence of endogenous factors on glucose level in blood tests of patients of different age groups

D. P. Piskunov, L. A. Danilova, L. V. Borisova, A. S. Pushkin, T. A. Akhmedov, V. L. Emanuel

Saint-Petersburg State Pediatric Medical University, First Saint Petersburg State Medical University n.a. I. P. Pavlov, City Multidisciplinary Hospital No. 2; Saint Petersburg, Russia

Резюме
Цель исследования: ***выявить влияние биохимических процессов клеточного дыхания дифференцированно в различных популяциях гемограммы человека на диагностическую информативность определения уровня глюкозы в венозной крови.*** *Материалы и методы.* ***Проведено исследование на 115 образцах крови в пробирках типа Vacutainer с активатором свертывания крови от пациентов в возрасте от 21 до 90 лет, находившихся на лечении в стационаре на базе офтальмологического, терапевтического и хирургического отделений. Проведена оценка корреляционной зависимости влияния гематологического состава крови на изменения уровня глюкозы в процессе хранения образцов всей сформированной популяции.*** *Результаты.* ***В трех группах, ранжированных в зависимости от величины каждого исследуемого показателя, выявлено влияние количества лимфоцитов, эозинофилов, тромбоцитов, а также величины тромбокрита, среднего объема тромбоцитов и относительной ширины распределения тромбоцитов по объему, возраста пациентов на изменения показателей глюкозы за 24 и 48 часов хранения образцов крови при температуре +4 °С.*** *Выводы.* ***Эндогенные факторы, характеризующие пробы крови, необходимо учитывать как элементы преаналитического этапа при валидации результатов клинических лабораторных исследований.***

Ключевые слова: ***эндогенные факторы, преаналитический этап, гематологические индексы, уровень глюкозы в крови.***

Summary
Aim. ***Investigation of biochemical processes effect from cellular respiration on diagnostic information about level of glucose in venous blood.*** *Materials and Methods.* ***We examined 115 blood samples in Vacutainer-type tubes with coagulation activator from patients aged 21 to 90 years. Patients were treated in ophthalmological, therapeutic and surgical departments of hospital. We evaluated correlation dependence of hematological factors effect on changes in glucose level during storage of samples.*** *Results.* ***Three groups were ranked according to the size of each studied indicator. We have found effect of lymphocyte counts, eosinophils, platelets, as well as thrombocrit value, average platelet volume and relative width of platelet distribution by volume, age of patients on changes in glucose values for 24 and 48 hours of blood samples storage at a temperature of +4 °C.*** *Conclusion.* ***Endogenous factors of blood samples is the important elements of pre-analytical phase in validating the results of clinical laboratory tests.***

Key words: ***endogenous factors, preanalytical phase, hematological indices, blood glucose level.***

Введение

Среди разнообразных причин ошибок на преаналитической стадии лабораторного исследования малоизученными являются влияния свойств самих биопроб, то есть эндогенных факторов.

Цель исследования: выявить влияние биохимических процессов клеточного дыхания в различных популяциях гемограммы человека на диагностическую информативность исследования уровня глюкозы в венозной крови.

Материалы и методы

Исследование проведено на 115 образцах крови от пациентов в возрасте от 21 до 90 лет, находившихся на плановом лечении в стационаре на базе офтальмологического, терапевтического и хирургического отделений СПб ГБУЗ «Городская многопрофильная больница № 2», в пробирках типа Vacutainer с активатором свертывания крови

Критериями исключения являлись патологические показатели крови при онкологических заболеваниях. Пробы были подвергнуты центрифугированию при 1 200 g 10 минут согласно ГОСТ Р 53079.4–2008. Исследование включало два этапа. На первом была проведена оценка корреляционной зависимости влияния гематологических показателей на изменения уровня глюкозы. Для оценки влияния использовались такие гематологические параметры, как скорость оседания эритроцитов (СОЭ), количество лейкоцитов (WBC), количество нейтрофилов (NEUT), процентное содержание нейтрофилов (NEUT%), количество лимфоцитов (LYM), процентное содержание лимфоцитов (LYM%), количество моноцитов (MON), процентное содержание моноцитов (MON%), количество эозинофилов (EOS), процентное содержание эозинофилов (EOS%), количество базофилов (BAS), процентное содержание базофилов (BAS%), содержание гемоглобина (HBG), гематокрит (HCT), количество эритроцитов

Таблица 1

Разделение исследуемых показателей по группам

Параметр	Возраст, лет			Lym, 10^9/л			EOS, 10^9/л			PLT, 10^9/л		
Группы	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Количество образцов	38	38	39	38	38	38	38	38	39	38	38	39
Диапазон значений	21–58	58–72	72–90	0,4–1,66	1,66–2,35	2,36–5,62	0,00–0,11	0,11–0,23	0,24–1,30	71–175	175–418	424–981

Параметр	PCT, %			MPV, фл			PDW, %		
Группы	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Количество образцов	38	38	39	38	38	39	38	38	39
Диапазон значений	0,06–0,14	0,15–0,25	0,25–0,79	4,5–6,6	6,6–7,8	7,90–12,8	17,1–19,1	19,2–20,5	20,5–24,8

(RBC), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC), средний объем эритроцита (MCV), коэффициент вариации распределения эритроцитов по объему (RDW-CV), количество тромбоцитов (PLT), тромбокрит (PCT), средний объем тромбоцитов (MPV), распределение тромбоцитов по объему (PDW).

Интерпретация коэффициента корреляции производилась исходя из уровня силы связи: r = 0,01–0,29 – слабая связь; r = 0,30–0,69 – средняя связь. Далее проведен сравнительный статистический анализ смещений уровня глюкозы при разделении общей выборки проб пациентов на три равные части в зависимости от величины каждого исследуемого показателя (табл. 1).

Уровень глюкозы в образцах исследовали глюкозооксидазным методом на биохимическом анализаторе Abbott Architect c8000 реактивами производителя оборудования. Данные, полученные при первом исследовании, были приняты за нулевую точку. Уровень глюкозы исследовали через 24 и 48 часов хранения при температуре +4 °C. Гематологические параметры определяли на гематологическом анализаторе Abbott CELL-DYN Ruby реагентами производителя оборудования.

Для определения уровня смещения (B%) глюкозы в пробах за 24 и 48 часов была использована формула

$$B = (xi – ЦЗ) / ЦЗ \times 100\%,$$

где B – смещение, xi – значение концентрации аналита каждого пациента, ЦЗ – целевое значение, за которое было принято значение уровня глюкозы каждого пациента на нулевой точке измерения.

При оценке значимости смещения учитывались значения неопределенности измерений (НИ) для каждой аналитической системы по формуле

$$НИ = \sqrt{CV^2 + d(B)^2 + \frac{|\bar{B}|}{\sqrt{3}}},$$

где CV – коэффициент вариации внутрилабораторного контроля качества за 6 месяцев; d (B) – среднеквадратичное отклонение относительной величины смещения по данным внешней оценки качества за тот же период; $|\bar{B}|$ – абсолютное значение среднего смещения по данным внешней оценки качества за тот же период (6 месяцев).

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи пакета программ статистической обработки IBM SPSS Statistics и MS Excel. Все показатели проверялись на соответствие нормальному распределению по критерию Колмогорова-Смирнова. Для определения статистической значимости различий между двумя группами использовался критерий Манна-Уитни для независимых выборок. За пороговое значение уровня значимости принимали $p \leq 0,05$. Корреляционная зависимость оценивалась по критерию Спирмена для непараметрических данных.

Результаты

Оценка смещения уровня глюкозы была проведена с учетом данных о неопределенности измерений исследуемых параметров в используемых аналитических системах (табл. 2).

По результатам анализа корреляционной зависимости (табл. 3) выявлено, что обратная слабая и средняя корреляционные связи наблюдаются среди показателей: лимфоциты (–0,261 для 24 часов и –0,287 для 48 часов); эозинофилы (–0,253 для 24 часов и –0,237 для 48 часов); тромбоциты (–0,254 для 24 часов и –0,312 для 48 часов); тромбокрит (–0,185 для 24 часов и –0,246 для 48 часов). Прямая слабая и средняя корреляционные связи наблюдаются среди показателей: средний объем тромбоцитов (0,285 для 24 часов и 0,333 для 48 часов); относительная ширина распределения тромбоцитов по объему (0,315 для 24 часов и 0,361 для 48 часов). Также слабая корреляционная взаимосвязь обнаружена и по возрасту пациентов (0,258 для 24 часов и 0,282 для 48 часов). Слабая корреляционная связь берется во внимание для проверки дополнительных статистических разработок. Увеличение корреляционных индексов в зависимости от времени хранения образцов, возможно, связано с нелинейностью корреляционной зависимости.

Для дальнейшего изучения проведен сравнительный статистический анализ сформированных групп (табл. 1), наиболее информативным было сравнение групп 1 и 3, так как это группы с минимальными и максимальными значениями исследуемых параметров. Полученные данные представлены в табл. 4.

По данным табл. 4, прослеживаются статистически значимые отличия (в группах 1 и 3) изменения уровня глюкозы в зависимости от уровня представленных показателей: лимфоциты (0,050 для 24 часов и 0,025 для 48 часов); эозинофилы (0,001 для 24 часов и 0,003 для 48 часов); тромбоциты (0,008 для 24 часов и 0,001 для 48 часов); тромбокрит (0,012 для 24 часов

Таблица 2

Неопределенность измерений исследуемых параметров

Исследуемый параметр	Glucose	HCT	HGB	MCH	MCHC	MCV	PLT	WBC	RDW	RBC
Неопределенность измерений, %	4,02	4,02	3,02	5,05	3,66	4,35	7,36	7,67	4,70	3,51

Таблица 3

Корреляционная зависимость гематологических параметров и изменения уровня глюкозы

Параметр	Возраст	СОЭ	WBC	NEUT	NEUT%	LYM	LYM%	MON	MON%	EOS	EOS%	BAS
Смещение, 24 часа	0,258	–0,061	–0,135	–0,076	0,066	–0,261	–0,067	–0,128	–0,02	–0,253	–0,133	–0,156
Смещение, 48 часов	0,282	–0,076	–0,196	–0,137	0,034	–0,287	–0,049	–0,158	0,11	–0,237	–0,082	–0,21
Параметр	**BAS%**	**HBG**	**HCT**	**RBC**	**MCH**	**MCHC**	**MCV**	**RDW-CV**	**PLT**	**PCT**	**MPV**	**PDW**
Смещение, 24 часа	-0,017	0,028	0,112	0,078	0,094	0,146	0,067	-0,044	-0,254	-0,185	0,285	0,315
Смещение, 48 часов	0,029	0,048	0,037	0,021	0,09	0,129	0,058	0,038	-0,312	-0,246	0,333	0,361

Таблица 4

Расчеты статистической значимости сравнения исследуемых групп

Параметр	Возраст			Lym			EOS			PLT			PCT			MPV			PDW		
Группы	**1 и 2**	**1 и 3**	**2 и 3**	**1 и 2**	**1 и 3**	**2 и 3**	**1 и 2**	**1 и 3**	**2 и 3**	**1 и 2**	**1 и 3**	**2 и 3**	**1 и 2**	**1 и 3**	**2 и 3**	**1 и 2**	**1 и 3**	**2 и 3**	**1 и 2**	**1 и 3**	**2 и 3**
Смещение, 24 часа	0,061	0,014	0,670	0,807	0,050	0,119	0,004	0,001	0,983	0,014	0,008	0,787	0,009	0,012	0,901	0,366	0,010	0,071	0,016	0,001	0,232
Смещение, 48 часов	0,076	0,012	0,375	0,240	0,025	0,225	0,009	0,003	0,923	0,002	0,001	0,702	0,002	0,002	0,866	0,467	0,001	0,009	0,028	0,001	0,068

и 0,002 для 48 часов); средний объем тромбоцитов (0,010 для 24 часов и 0,001 для 48 часов); относительная ширина распределения тромбоцитов по объему (0,001 для 24 и 48 часов), $p \leq 0,05$, что свидетельствует о статистической значимости. Статистически значимые отличия (в группах 1 и 3) обнаружены также и по возрасту пациентов (0,014 для 24 часов и 0,012 для 48 часов).

Обсуждение

Традиционно снижение уровня глюкозы в пробах объясняют процессом гликолиза в эритроцитах. Однако результаты данного исследования свидетельствуют о незначительном влиянии эритроцитарных индексов крови на уровень снижения глюкозы в пробах. Очевидно, это связано с образованием сгустка в пробирке и препятствованием доступа глюкозы к красным клеткам крови.

Обнаружение корреляционной зависимости и статистически значимых отличий при сравнении смещения глюкозы у двух групп с разными уровнями лимфоцитов свидетельствует о влиянии количества лимфоцитов на уровень смещения глюкозы в пробах. По результатам исследования J. Nancie и соавт. [1], активированные лимфоциты резко увеличивают энергетические потребности для поддержки метаболических процессов, необходимых для роста, пролиферации и эффекторной функции. Таким образом, вклад лимфоцитов в снижение уровня глюкозы в пробах выглядит вполне логичным.

По данным исследования L. Porter и соавт. [2], нейтрофилы по сравнению с эозинофилами демонстрируют значительно более активное базальное митохондриальное АТФ-связанное дыхание, максимальную запасную и дыхательную способность. Кроме того, эозинофилы имеют гораздо меньшие запасы гликогена по сравнению с нейтрофилами. Результаты нашего эксперимента логично подтверждают эти данные и свидетельствуют о влиянии количества эозинофилов на смещение глюкозы в пробах.

Корреляционная взаимосвязь смещения глюкозы и тромбоцитарных индексов, на наш взгляд, самая неочевидная. Однако, по данным M. Mibibula и соавт. [3], переход тромбоцитов из состояния покоя в активированное состояние требует кардинальных изменений в доступности АТФ. Тромбоциты обладают молекулярным механизмом, необходимым для генерации АТФ как в процессе гликолиза, так и окислительного фосфорилирования. Учитывая вышеизложенное, можно предположить о наличии влияния тромбоцитарных параметров на стабильность уровня концентрации глюкозы во время хранения образцов, что подтверждает наше исследование.

С возрастом происходит снижение внутриклеточного уровня окисления глюкозы во всех тканях организма. Возможные причины снижения эффективности инсулина при старении включают снижение физической активности, дисфункцию митохондрий, гормональные изменения (то есть снижение уровней IGF-1 и DHEA), повышенный окислительный стресс и воспаление [4]. Обнаруженная нами корреляция уменьшения уровня смещения глюкозы в пробах у пациентов старших возрастных групп также подтверждает имеющиеся литературные данные.

Выводы

При изучении стабильности концентрации глюкозы в сыворотке крови при хранении образцов в течение 24 и 48 часов при температуре +4 °C выявлено статистически значимое влияние таких показателей, как количество лимфоцитов, эозинофилов, тромбоцитов, величина тромбокрита, средний объем тромбоцитов, относительная ширина распределения тромбоцитов по объему, а также возраст пациентов (табл. 3).

Таким образом, указанные эндогенные факторы, характеризующие пробы крови, необходимо учитывать как элементы преаналитического этапа при валидации результатов клинических лабораторных исследований.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. *Nancie J. MacIver, Sarah R. Jacobs, Heather L. Wieman, Jessica A. Wofford, Jonathan L. Coloff, and Jeffrey C. Rathmell. Glucose metabolism in lymphocytes is a regulated process with significant effects on immune cell function and survival. J Leukoc Biol. 2008; 84 (4): 949–957. doi.org/10.1189/jlb.0108024.*
2. *Linsey Porter, Nicole Toepfner, Kathleen R. Bashant, Jochen Guck, Margaret Ashcroft, Neda Farahi, Edwin R. Chilvers. Metabolic Profiling of Human Eosinophils. Frontiers in immunology. 2018; 9: 1404. doi.org/10.3389/fimmu.2018.01404.*
3. *M. Mibibula, K.M. Naseem, R.G. Sturmey. Glucose metabolism and metabolic flexibility in blood platelets. Journal of Thrombosis and Haemostasis. 2018; 16: 2300–14. doi.org/10.1111/jth.14274.*
4. *Rita Rastogi Kalyani, Josephine M. Egan. Diabetes and Altered Glucose Metabolism with Aging. Endocrinol Metab Clin North Am. 2013; 42 (2): 333–347. doi.org/10.1016/j.ecl.2013.02.010.*

Для цитирования: Пискунов Д.П., Данилова Л.А., Борисова Л.В., Пушкин А.С., Ахмедов Т.А., Эмануэль В.Л. Влияние эндогенных факторов на уровень концентрации глюкозы в пробах крови пациентов различных возрастных групп. Медицинский алфавит. 2020;(5):25–27. https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-5-25–27

For citation: Piskunov D.P., Danilova L.A., Borisova L.V., Pushkin A.S., Akhmedov T.A., Emanuel V.L. Influence of endogenous factors on glucose level in blood tests of patients of different age groups. Medical alphabet.2020; (5):25–27. https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-5-25–27