

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КАК ПРЕДИКТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА

Г.Н. Гуликян¹, Р.А. Пахомова²

¹ ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» города Красноярск», Россия

² Медицинский институт непрерывного образования ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Введение. Острый панкреатит входит в пять наиболее часто встречающихся заболеваний в urgentной хирургии брюшной полости. В последнее время в практику прочно входят методы электронной микроскопии эритроцита в качестве предикта определения степени тяжести острого панкреатита.

Цель. Сравнить состояние эритроцитов здоровых людей с эритроцитами пациентов с острым панкреатитом различной степени тяжести.

Материалы и методы. Проведено исследование эритроцитов периферической крови здоровых людей и больных панкреатитом различной степени тяжести. Для сравнения изучалась форма эритроцита, состояние цитоплазмы, а также содержание калия, натрия, кальция, азота и кислорода.

Результаты. При проведении исследования отмечена корреляция между тяжестью течения острого панкреатита и изменениями формы, мембраны и ионного состава цитоплазмы эритроцита периферической крови.

Выводы. По полученным изменениям эритроцитов можно косвенно судить и о процессах, происходящих в клетках поджелудочной железы и, соответственно, проводить определение степени тяжести течения острого панкреатита.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острый панкреатит, эритроцит, мембрана, электронная микроскопия

КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ: Гуликян Гарен Нораирович, e-mail: PRA5555@mail.ru

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Гуликян Г.Н., Пахомова Р.А. Электронная микроскопия эритроцитов периферической крови как предикт определения степени тяжести острого панкреатита // Вестник Медицинского института непрерывного образования. — 2024. — Т. 4. — № 3. — С. 101–106. — DOI 10.36107/2782-1714_2024-4-3-101-106.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ: Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ: Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ: Данные текущего исследования можно получить по обоснованному запросу у корреспондирующего автора.

ELECTRON MICROSCOPY OF PERIPHERAL BLOOD ERYTHROCYTES AS A PREDICTOR OF DETERMINING THE SEVERITY OF ACUTE PANCREATITIS

G.N. Gulikyan¹, R.A. Pakhomova²

¹ University "Clinical hospital "Russian Railways-Medicine" of the city of Krasnoyarsk", Russia

² Medical Institute of Continuing Education, Russian Biotechnological University (ROSBIOTECH), Moscow, Russia

ABSTRACT

Background. Acute pancreatitis is one of the five most common diseases in urgent abdominal surgery. Recently, the methods of electron microscopy of erythrocytes as a predictor of determining the severity of acute pancreatitis have become firmly established in practice.

Purpose. To compare the state of erythrocytes of healthy people with erythrocytes of patients with acute pancreatitis of different severity.

Materials and methods. The study of peripheral blood erythrocytes of healthy people and patients with pancreatitis of varying severity was carried out. For comparison, the erythrocyte shape, cytoplasm state, as well as the content of potassium, sodium, calcium, nitrogen and oxygen were studied.

Results. During the study, the correlation between the severity of acute pancreatitis course and changes in the shape, membrane and ionic composition of the peripheral blood erythrocyte cytoplasm was noted.

Conclusions. According to the obtained changes in erythrocytes, it is possible to indirectly judge the processes occurring in the cells of the pancreas and, accordingly, to determine the severity of the acute pancreatitis course.

KEYWORDS: acute pancreatitis, erythrocyte, membrane, electron microscopy

CORRESPONDENCE: Garen N. Gulikyan, e-mail: PRA5555@mail.ru

FOR CITATIONS: Gulikyan G.N., Pakhomova R.A. Electron Microscopy of Peripheral Blood Erythrocytes as a Predictor of Determining the Severity of Acute Pancreatitis /// Bulletin of the Medical Institute of Continuing Education — 2024. — V. 4. — No. 3. — P. 101–106. — DOI 10.36107/2782-1714_2024-4-3-101-106.

FUNDING SOURCE: The authors declare no funding for the study.

DECLARATION OF COMPETING INTEREST: The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

DATA AVAILABILITY STATEMENT: Data from the current study are available from the corresponding author upon reasonable request.

ВВЕДЕНИЕ

Острый панкреатит входит в пять наиболее часто встречающихся заболеваний в ургентной хирургии брюшной полости [1]. Если алгоритм диагностики достаточно хорошо отработан [2], и постановка диагноза, как правило, не вызывает затруднений [3], то определение степени тяжести процесса иногда становится проблематичным. В частности, это связано с широко распространенным самолечением пациентов (приемом противовоспалительных нестероидных препаратов), в результате чего клиническая картина становится смазанной, а основные симптомы завуалированы. Подобная ситуация наталкивает врачей на поиск новых путей диагностики панкреатита [4]. В последнее время в практику прочно входят методы электронной микроскопии эритроцита в качестве предикта определения степени тяжести острого панкреатита [5].

Все процессы, происходящие в организме человека, отражаются на характеристиках крови, в частности, на состоянии эритроцитов [6]. Эритроциты являются как бы зеркалом патологических процессов, происходящих во всех клетках человеческого тела, и поэтому эритроцитарная клетка чаще других присутствует в проведении разнообразных тестов для выявления заболеваний, определения степени его тяжести и прогнозирования развития возможных осложнений [7]. Таким образом, на современном этапе развития медицины исследование эритроцитов при различных заболеваниях перестало быть научно-прикладным методом, а прочно перешло в разряд диагностических тестов [8].

Но тестированию подлежат не только количественный подсчет эритроцитов и определение гемоглобина. Своевременное выявление отклонений, возникающих при различных заболеваниях, в частности, при

остром панкреатите, стало возможным при применении анализа цитоархитектоники эритроцита методом электронной микроскопии. Проводится микроскопическое исследование формы клетки, состояния клеточной мембраны. Эритроцитарная мембрана стала основной для всех клеточных мембран, и ее патологические изменения могут быть достоверно транспонированы на мембраны других клеток организма [9]. В норме эритроцитарная мембрана малопроницаема для катионов калия и натрия, и изменения содержания калия и натрия в клетке могут свидетельствовать о нарушении функционирования оболочки или о повреждении ее целостности [10]. Возможность выполнить микрофотографии клеток при электронной микроскопии позволяет выявить поверхностные изменения эритроцитарных мембран [11].

Необходимо добавить, что эритроциты являются самыми доступными клетками человеческого организма, обладающими всеми общими признаками [12].

Исходя из всего вышесказанного, нарушения структурно-метаболического состояния эритроцитов периферической крови позволяет рассматривать их как маркеры развивающегося заболевания.

В последнее десятилетие изучение состояния эритроцитов периферической крови все шире используется для диагностики, определения степени тяжести и осложнений у пациентов с острым панкреатитом [13–14].

Согласно классификации острого панкреатита Российского Общества Хирургов (2014 г.), разработанной с учетом классификации Атланта-92, принято различать:

- острый панкреатит легкой степени;
- острый панкреатит средней степени;
- острый панкреатит тяжелой степени [3].

В соответствии с данной классификацией в исследовании рассматривались группы пациентов для изучения состояния эритроцитов в периферической крови.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: сравнить состояние эритроцитов здоровых людей с эритроцитами пациентов с острым панкреатитом различной степени тяжести.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено исследование эритроцитов периферической крови здоровых людей и больных панкреатитом различной степени тяжести. Для сравнения изучалась форма эритроцита, состояние цитоплазмы, а также содержание калия, натрия, кальция, азота и кислорода.

Забор венозной крови проводили из кубитальной вены при поступлении в стационар у пациентов с панкреатитом. В качестве контрольной группы использовали кровь доноров, т.е. практически здоровых людей. Во всех отобранных образцах крови проводили электронную микроскопию эритроцитов с помощью программы QUANTAX 70. Проводилась спектральная оценка состава эритроцита.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Форма эритроцитов здоровых людей была преимущественно в виде двояковогнутого сфероцита. В трехмерном изображении мембрана отчетливо контурировалась, цитоплазма однородная (рис. 1).

При остром панкреатите легкой степени тяжести при электронной микроскопии статистически значимых изменений формы не наблюдали (рис. 2). Также при трехмерном изображении не выявлено изменений нарушений структуры мембраны эритроцитов. Однородность цитоплазмы эритроцита также не была нарушена.

Таким образом, структура эритроцита при панкреатите легкой степени тяжести не отличается от таковой у здоровых людей.

При панкреатите средней тяжести на фоне нарастания интоксикации и присоединения системного воспаления изменения формы эритроцитов также не наблюдалось, однако отмечалась размытость мембраны, структура становилась все более нечеткой (рис. 3). Выявлялась незначительная деструктуризация цитоплазмы клетки.

У наиболее тяжелых пациентов с острым панкреатитом тяжелой степени упомянутые изменения достигали своего пика. Хотя трансформация формы эритроцита была незначительной, мембрана становилась размытой, нечеткой, в отдельных случаях определялось нарушение ее целостности. При электронной микроскопии цитоплазмы отмечалось значительное изменение цитоплазмы эритроцита (рис. 4).

По данным трехмерных изображений эритроцитов, полученных при проведении электронной микроскопии, выявлены прогрессирующие изменения мембраны и цитоплазмы красных кровяных клеток. Изменения формы клетки были незначительными.

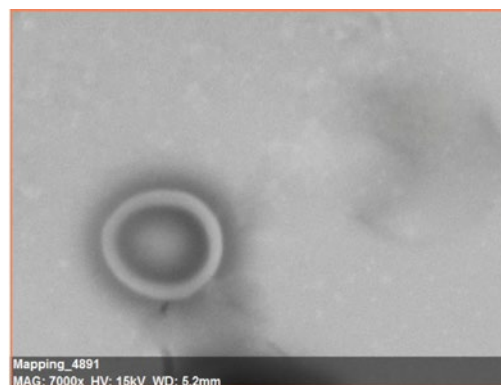


Рис. 1. Фото эритроцита практически здорового человека

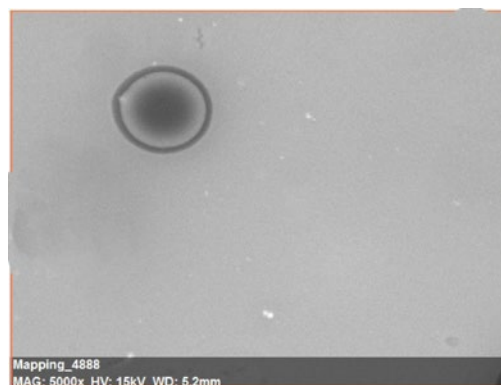


Рис. 2. Трехмерное изображение эритроцитов пациента с острым панкреатитом легкой степени тяжести, полученное при помощи электронной микроскопии

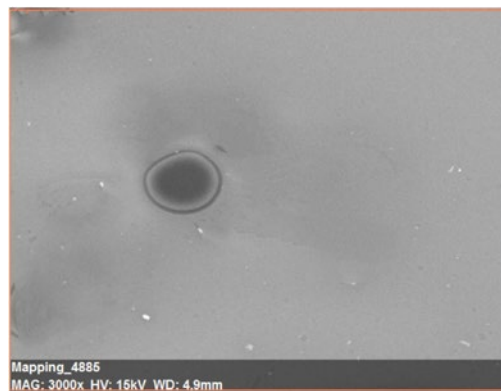


Рис. 3. Трехмерное изображение эритроцитов пациента с ОПСЛТ

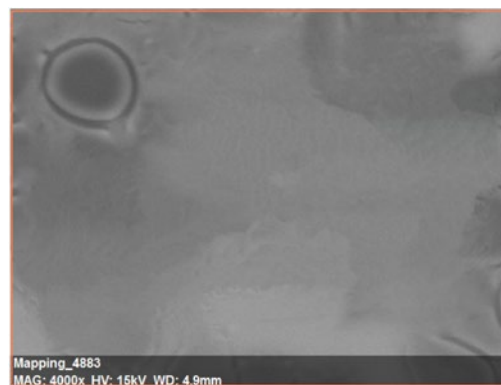


Рис. 4. Трехмерное изображение эритроцитов пациента ОПСТ, полученное при помощи электронной микроскопии

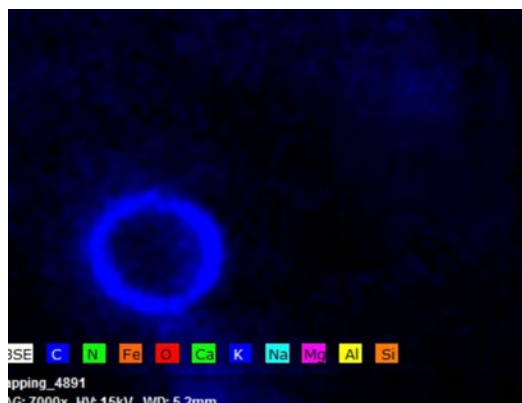


Рис. 5. Трехмерное спектральное изображение эритроцита периферической крови практически здорового человека

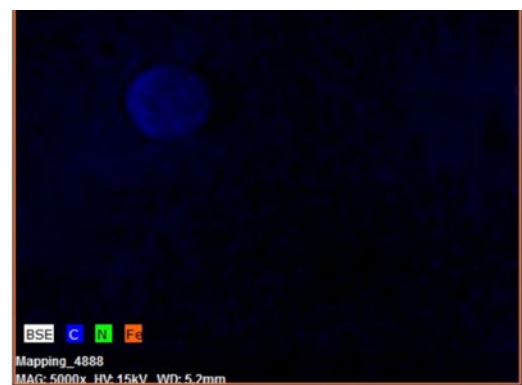


Рис. 6. Трехмерное спектральное изображение эритроцитов периферической крови пациента острым панкреатитом легкой степени тяжести

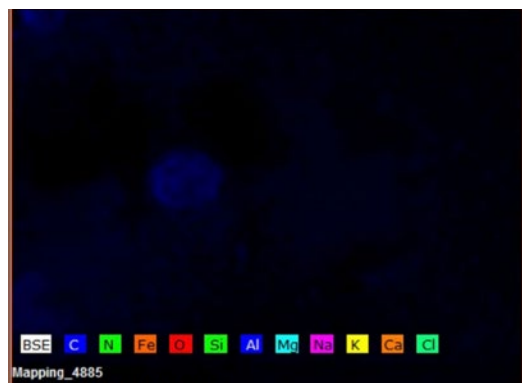


Рис. 7. Трехмерное спектральное изображение эритроцитов периферической крови пациента с острым панкреатитом средней степени тяжести

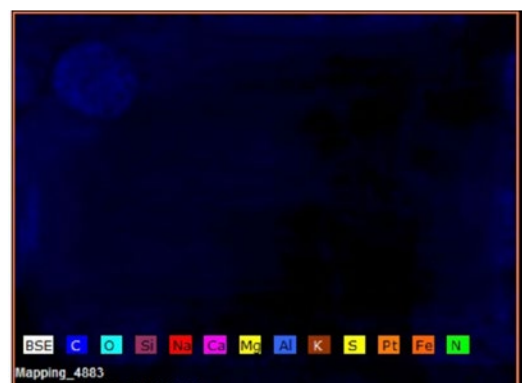


Рис. 8. Трехмерное спектральное изображение эритроцитов периферической крови пациента, полученное при помощи электронной микроскопии

Памятуя о том, что основной функцией эритроцита является транспорт кислорода, содержание последнего в клетке вызывает особенный интерес. Содержание O_2 в клетке является показателем ее функциональной активности. Спектральное изображение эритроцита при электронной микроскопии позволяет судить о содержании кислорода в эритроците.

Эритроциты практически здоровых лиц имеют достаточно высокое содержание кислорода, что можно визуализировать при электронной микроскопии (рис. 5).

На снимках, полученных в трехмерном спектральном изображении, отчетливо визуализируется голубое свечение, что свидетельствует о высоком содержании кислорода в эритроците. Анализируя трехмерное спектральное изображение по содержанию кислорода, было выявлено, что эритроцит сохраняет форму двояковогнутой сферы, однако визуально определяемое количество кислорода в клетке ниже, чем у практически здорового человека (рис. 6).

У пациентов с панкреатитом средней степени тяжести при проведении спектроскопии по содержанию кислорода отмечали визуальное изменение формы эритроцитов и снижение содержания в них кислорода (рис. 7), также отмечена негетомогенность цитоплазмы.

Тяжелое течение панкреатита характеризовалось наличием неструктурированной мембраны с крайне низким содержанием кислорода (рис. 8). Цитоплазма приобрела зернистый вид, что свидетельствует о выраженных нарушениях ее структуры.

В дополнение проводилась расшифровка химического состава эритроцитов. Исследовали наиболее значимые химические элементы, входящие в состав эритроцита: калий, натрий, кальций, кислород и азот (рис. 9).

При оценочной расшифровке данных спектроскопии у больных с острым панкреатитом легкой степени тяжести статистически значимых отличий хими-

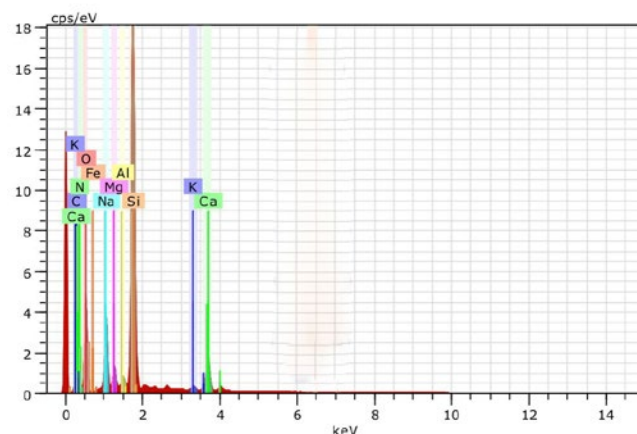


Рис. 9. Оценочная расшифровка химического состава эритроцита периферической крови у практически здорового человека

ческого состава эритроцитов от практически здоровых лиц выявлено не было (рис. 10). Все показатели оставались в зоне нормальных.

При расшифровке химического состава эритроцита у пациентов с ОПССТ отмечали значимое снижение важных внутриклеточных элементов: кислорода, калия и натрия (рис. 11). При анализе химического состава эритроцита у пациентов с острым панкреатитом тяжелого течения выявлены значительные отклонения от нормального состава (рис. 12).

Сравнительная характеристика изменений химического состава эритроцитов представлена в таблице 1.

Таблица 1. Химический состав эритроцита периферической крови у пациентов исследуемых групп

Показатель	Контрольная группа	ОПЛСТ	ОПССТ	ОПТСТ
Na+ (%)	4,2 [4,0; 4,4]	4,9 [4,5; 5,2] p=	5,6 [5,1; 5,9] p=	6,10 [5,7; 6,5] p=
K+ (%)	0,3 [0,2; 0,3]	0,2 [0,16; 0,23] p=	0,1 [0,14; 0,15] p=	0,1 [0,11; 0,13] p=
Ca+ (%)	1,4 [1,1; 1,6]	1,9 [1,6; 2,1] p=	2,2 [2,2; 2,4] p=	2,6 [2,2; 2,9] p=
O2+ (%)	20,3 [19,8; 21,5]	19,3 [18,3; 19,7] p=	16,9 [16,3; 17,6] p=	13,5 [13,2; 14,8] p=
C+ (%)	65,0 [60,5; 66,7]	67,2 [61,3; 70,8] p=	70,3 [68,3; 74,6] p=	71,2 [68,3; 76,4] p=
N+ (%)	8,5 [7,8; 8,9]	7,1 [7,1; 8,2] p=	7,2 [6,8; 7,9] p=	7,6 [7; 8,2] p=

*p – достоверность различия между исследуемым показателем и нормой

Расшифровка химического состава эритроцитов показала, что у пациентов с высокой интоксикацией и воспалением происходило значимое изменение содержания практически всех исследуемых химических элементов. При нарастании эндогенной интоксикации концентрация кислорода в клетке статистически достоверно уменьшалась (с 20,3% до 13,2%). Снижение кислорода в эритроците являлось значимым показателем развития тканевой гипоксии, утяжеляющей течение патологического процесса. Этот процесс усугублялся развитием прогрессивно нарастающей гипокалиемией. Чем больше отмечалась интоксикация, тем ниже становились показатели калия внутри клетки (с 0,3% до 0,1%). Уменьшению показателей калия способствовало присоединение синдрома системного воспалительного ответа.

Содержание натрия увеличилось на 50%. Подобные изменения неизбежно приводят к задержке воды в клетке и, соответственно, снижению функциональных возможностей эритроцита.

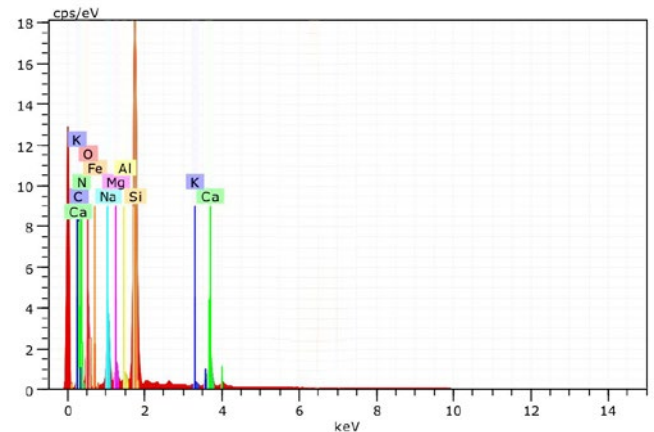


Рис. 10. Оценочная расшифровка химического состава эритроцита периферической крови пациента с ОПЛСТ

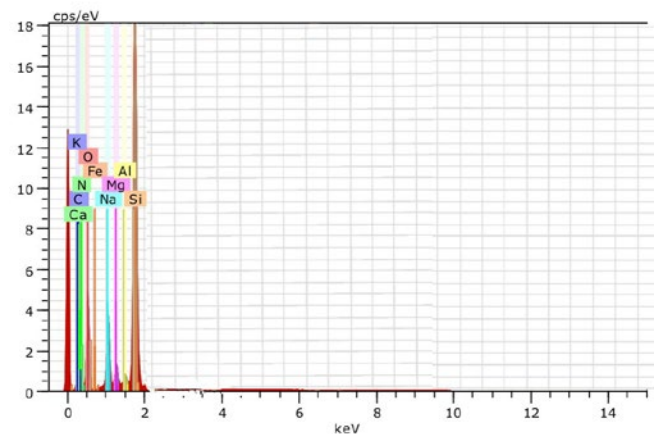


Рис. 11. Оценочная расшифровка химического состава эритроцита периферической крови пациента с ОПССТ

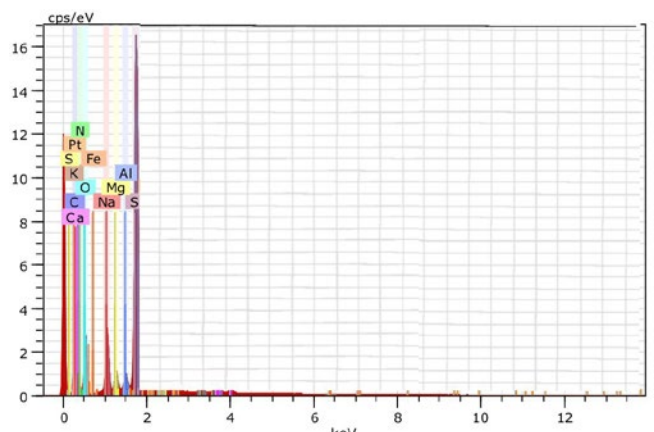


Рис. 12. Оценочная расшифровка химического состава эритроцита периферической крови пациента с ОПТСТ, полученное при помощи электронной микроскопии

Количество ионов кальция увеличилось почти в 2 раза. Высокий уровень внутриклеточного свидетельствует о повреждении клетки и апоптозе.

При этом уровень углерода и азота практически не изменился. Следовательно, при проведении дальнейших исследований в этой области данные показатели можно не рассматривать.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По итогам проведенного исследования необходимо отметить, что при всех формах острого панкреатита меньше всего изменяется форма эритроцита. По всей видимости, это связано с наличием в эритроците плотной двухслойной мембраны, позволяющей длительное время сохранять форму клетки. Тем не менее, по мере утяжеления процесса и нарастания интоксикации происходят изменения мембраны эритроцита. Чем

тяжелее панкреатит, тем хуже становится транспортная функция эритроцита, содержание кислорода в нем прогрессивно уменьшается соответственно тяжести процесса. Изменение ионного состава клетки в конечном итоге может привести к ее гибели.

По данным изменениям эритроцитов можно косвенно судить и о процессах, происходящих в клетках поджелудочной железы, таким образом, можно определить степень тяжести течения острого панкреатита.

ЛИТЕРАТУРА

1. Багненко С. Ф. и др. Острый панкреатит (Протоколы диагностики и лечения) // *Анналы хирургической гепатологии*. — 2006. — Т. 11. — № 1. — С. 60–66.
2. Ермолов А.С., Иванов П.А., Благовестнов Д.А. и др. Диагностика и лечение острого панкреатита // М. «ВИДАР». — 2013. — 382 с.
3. Клинические рекомендации. — Острый панкреатит. — 2020. diseases.medelement.com.
4. Мамаева С. Н., Мунхалова Я. А., Кононова И. В., Дьяконов А. А., Корякина В. Н., Шутова В. В., Максимов Г. В. Исследование эритроцитов крови методом растровой электронной микроскопии // *Вестник Мордовского университета*. — 2016. — Т. 26. — № 3. — С. 381–390. DOI: 10.15507/0236-2910.026.201603.381-390
5. Платонова К.Н., Стручков В.Н., Семенова М.Н. [и др.]. Исследование эритроцитов человека методом сканирующей электронной микроскопии: условие проведения эксперимента // *Молодой ученый*. — 2020. — № 23 (313). — С. 27–33. — URL: <https://moluch.ru/archive/313/71381/> (дата обращения: 08.07.2024).
6. Баева Е.С., Артюхов В.Г., Бельских М.В. Световая и сканирующая электронная микроскопия в исследовании цитоархитектоники эритроцитов человека: значимость пробоподготовки // *Вестник ВГУ, серия: Химия. Биология. Фармация*. — 2023. — № 4. — С. 55–60.
7. Woo K.S., An G.D., Lim H.H., Han J.Y. Reference values for extended red blood cell parameters on the Abbott Cell-Dyn sapphire system in Korean adult population // *Int J Lab Hematol*. — 2020. — № 42(5). — P. e218–e219.
8. Mukhopadhyay M., Ghosh U.U., Sarkar D., DasGupta S. Surface property induced morphological alterations of human erythrocytes // *Soft Matter*. — 2018. — № 14(36). — P. 7335–7346.
9. Van den Boom B.P., Lisman T. Pathophysiology and management of bleeding and thrombosis in patients with liver disease // *Int J Lab Hematol*. — 2022. — № 44. — P.79–88.
10. Swanepoel A.C., Pretorius E. Scanning electron microscopy analysis of erythrocytes in thromboembolic ischemic stroke // *Int J Lab Hematol*. — 2012. — № 34(2). — P. 185–191.
11. Башук В.В., Павлова Т.В., Прошаев К.И., Чаплыгина М.А., Селиванова А.В., Сырцева И.С. Морфологические и морфофункциональные свойства эритроцитов в группе практически здоровых людей // *Фундаментальные исследования*. — 2014. — № 4–2. — С. 242–245.
12. Кленова Н. А., Кленов Р. О. Строение, метаболизм и функциональная активность эритроцитов человека в норме и патологии // *Самара. Изд-во Самарского университета*. — 2009. — 116 с.
13. Мороз В. В. и др. Строение и функция эритроцита в норме и при критических состояниях // *Общая реаниматология*. — 2012. — Т. 8. — № 1. — С. 52–60.
14. Луденко М.Т., Андриевская И.А. Морфофункциональные изменения в эритроидных элементах в норме и при патологии // *Благовещенск*. — 2015. — 144 с.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Гуликян Гарен Нораирович — к.м.н., доцент кафедры пластической хирургии МИНО ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ», ЧУЗ «Клиническая больница «РЖД-Медицина» города Красноярск», <https://orcid.org/0000-0002-1549-0319>

Пахомова Регина Александровна — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой пластической хирургии МИНО ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ», <https://orcid.org/0000-0002-3681-4685>

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Гуликян Г.Н. — утверждение рукописи для публикации, обзор и редактирование, проверка критически важного содержания, проведение хирургического лечения

Пахомова Р.А. — определение цели и задач исследования, разработка плана исследования

ИНФОРМИРОВАННОЕ СОГЛАСИЕ НА ПУБЛИКАЦИЮ: авторы получили письменное согласие пациентов на публикацию медицинских данных и фотографий.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ: проведенное исследование соответствует стандартам Хельсинкской декларации (Declaration Helsinki), соответствие протокола исследования этическим принципам было подтверждено Локальным этическим комитетом МИНО ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ» (Москва, Волоколамское шоссе, дом 11, Москва, Россия), протокол № 3 от 05.09.2024 г.

ПОСТУПИЛА: 03.07.2024
ПРИНЯТА ПОСЛЕ РЕЦЕНЗИРОВАНИЯ: 26.08.2024
ОПУБЛИКОВАНА: 17.09.2024