

УДК 577.359

DOI: 10.31040/2222-8349-2019-0-2-38-43

АКУСТИЧЕСКАЯ ИНТЕРФЕРОМЕТРИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ПАЦИЕНТОВ СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА НА ФОНЕ ЭРИТРОЦИТАРНЫХ ПРОЯВЛЕНИЙ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКОГО ПАРАНЕОПЛАСТИЧЕСКОГО СИНДРОМА

**© А.И. Стародумова, Т.А. Веселова, Д.Н. Белослудцев,
А.И. Самойлова, А.В. Клемина, А.П. Веселов**

Актуальна разработка и внедрение в лабораторную диагностику и практику научных исследований методов, позволяющих эффективно и с минимальными затратами оценить тяжесть онкологического заболевания, наличие осложнений, обусловленных системным воздействием опухоли на организм. Онкологический процесс зачастую сопровождается анемией, последствия развития которой для организма заключаются в гемической гипоксии органов и тканей и существенно влияют на течение патологического процесса. Возникающие при злокачественных новообразованиях метаболические, функциональные и структурные изменения эритроцитов, как следствие, их вязкоупругих свойств, в том числе обусловленных анемией, приводят к нарушению микроциркуляции крови и развитию гипоксии тканей, во многом определяют тяжесть течения заболевания, а также могут служить дополнительным прогностическим критерием злокачественного роста.

Изменения физических параметров эритроцитов, в частности, упругости клеток, можно оценить с помощью ультразвуковых методов исследований клеток.

Целью работы является оценка возможности использования акустической интерферометрии для изучения структурных перестроек эритроцитов пациентов с онкологическими заболеваниями желудка и кишечника, осложненными и не осложненными анемией – наиболее частым гематологическим паранеопластическим синдромом.

Материалом для исследований являлись образцы венозной крови пациентов с онкологическими и неонкологическими заболеваниями желудка и кишечника. Контролем служили образцы крови практически здоровых доноров. Для оценки количества, размеров эритроцитов, содержания в них гемоглобина использовали гематологические методы исследования, для изучения упругости эритроцитов – акустический метод.

У половины пациентов с заболеваниями желудочно-кишечного тракта на основании показателей гемограммы была диагностирована микроцитарная гипохромная анемия. Результаты акустических исследований показали снижение упругости эритроцитов (G) у пациентов с различными заболеваниями желудка и кишечника, осложненными анемией, что обусловлено снижением содержания гемоглобина в эритроцитах. Упругость поверхности эритроцитов (G/HGB) увеличивалась у пациентов с различными заболеваниями ЖКТ, осложненными анемией. У пациентов с онкологическими заболеваниями желудка и кишечника, не осложненными анемией, наблюдали тенденцию к повышению этого показателя по сравнению с контролем.

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования метода акустической интерферометрии эритроцитов в оценке тяжести течения онкологических заболеваний желудка и кишечника, в том числе в комплексной диагностике наличия анемии – основного осложнения заболевания.

Ключевые слова: акустическая интерферометрия, упругость эритроцитов, онкопатологии желудка и кишечника.

СТАРОДУМОВА Александра Игоревна, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, e-mail: Starodumovasa@gmail.com
ВЕСЕЛОВА Татьяна Анатольевна – к.б.н., Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, e-mail: Veselova-TA@yandex.ru
БЕЛОСЛУДЦЕВ Дмитрий Николаевич – к.м.н., Приволжский окружной медицинский центр Федерального медико-биологического агентства, e-mail: dnbelosludcev@gmail.com
САМОЙЛОВА Анастасия Ильинична, Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, e-mail: Samoilova_nastya@inbox.ru
КЛЕМИНА Анна Викторовна – к.ф.-м.н., Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, e-mail: Annet17@yandex.ru
ВЕСЕЛОВ Александр Павлович – д.б.н., Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, e-mail: Veselov@ibbm.unn.ru

Частота встречаемости заболеваний желудка и кишечника у пациентов с патологиями желудочно-кишечного тракта

Отдел ЖКТ	Онкопатологии ЖКТ, количество (n)/%	Патологии ЖКТ, количество (n)/%
Желудок	9/30	8/28
Кишечник	20/70	21/72

Введение. Онкологический процесс зачастую сопровождается анемией, последствия развития которой для организма заключаются в гемической гипоксии органов и тканей и существенно влияют на течение патологического процесса. Заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) являются одной из основных причин развития железодефицитной анемии, что обусловлено нарушением всасывания железа в кишечнике или его потерями вследствие эрозивно-язвенных, опухолевых или аутоиммунных воспалительных поражений слизистой оболочки кишечника [1].

Возникающие при злокачественных новообразованиях метаболические, функциональные и структурные изменения эритроцитов, как следствие, их вязкоупругих свойств, в том числе обусловленных анемией, приводят к нарушению микроциркуляции крови и развитию гипоксии тканей, что во многом определяет тяжесть течения заболевания и эффективность проводимой терапии, а также может служить дополнительным прогностическим критерием злокачественного роста как в экспериментальных исследованиях, так и клинике [2, 3].

Актуальна разработка и внедрение в лабораторную диагностику и практику научных работ дополнительных методов, позволяющих эффективно и с минимальными затратами оценить тяжесть онкологического заболевания и его осложнения. К таким методам, по всей видимости, можно отнести ультразвуковые исследования структуры эритроцитов.

Цель работы – анализ акустических параметров эритроцитов пациентов с онкологическими заболеваниями желудка и кишечника.

Материалы и методы. В работе использовали образцы цельной венозной крови и плазмы пациентов с онкопатологиями ЖКТ II и III стадий (рак желудка, сигмовидной кишки, восходящей ободочной кишки, слепой кишки) (онкопатологии ЖКТ, $n=29$) и патологиями неонкологического характера (гастрит, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки) (патологии ЖКТ, $n=29$), а также кровь практически здоровых доноров в качестве контроля (контроль, $n=20$).

Частота встречаемости заболеваний желудка и кишечника онкологического и неонкологического генеза была практически одинаковой (табл. 1).

Кровь отбирали в пробирки VACUETTE с фиолетовой крышкой, содержащие K_3 ЭДТА (1.8 мг/мл крови), объемом 4 мл.

Характеристики упругости эритроцитов исследовали методом акустической интерферометрии на анализаторе АКБа-01 «БИОМ»[4], определяющем акустический показатель (АКП) цельной крови и плазмы, на основании которых рассчитывается упругость эритроцита по формуле: $G = \frac{(АКП_{цельной\ крови} - АКП_{плазмы})}{RBC(\times 10^{-12}/л)}$, где АКП – акустический параметр:

$$АКП = \left(\frac{V_{образца}}{V_{H_2O}} - 1 \right) \times 10^3.$$

Если в расчетной формуле не учитывать содержание гемоглобина в пробах, то акустический параметр эритроцитов отражает состояние внутриклеточной вязкости эритроцитов.

Если в расчетную формулу добавить содержание гемоглобина в пробах, то показатель упругости эритроцитов зависит от структурных особенностей мембраны эритроцитов и гликокаликса:

$$G/HGB = \frac{(АКП_{цельной\ крови} - АКП_{плазмы})}{RBC(\times 10^{-12}/л) \times HGB (г/л)} \times 100.$$

Показатели упругости эритроцитов выражали в относительных единицах.

Наличие анемии диагностировали с помощью ряда гематологических показателей: концентрации в крови гемоглобина (Hb), содержания эритроцитов (RBC), среднего объема эритроцита (MCV), среднего содержания гемоглобина в эритроците (MCH), ширины распределения эритроцитов по объему (RDV). Определение гематологических показателей производили на автоматическом анализаторе Abacus Junior 30.

Достоверность отличий упругости эритроцитов пациентов с патологиями желудка и кишечника по сравнению с контролем оценивали с помощью критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m –

стандартная ошибка среднего. Статистически достоверными считали различия при $p \leq 0.05$.

Результаты и обсуждение. Анализ гематологических результатов показал, что у части пациентов с различными патологиями желудка и кишечника наблюдается гипохромная микроцитарная анемия с анизоцитозом (табл. 2).

О наличии анемии у части пациентов с различными заболеваниями желудка и кишечника свидетельствует уменьшение концентрации гемоглобина в крови, а также снижение таких эритроцитарных индексов, как средний объем эритроцита, среднее содержание гемоглобина в эритроците и увеличение ширины распределения эритроцитов по размеру по сравнению с контролем. Наличие анизоцитоза при пониженном значении MCV может свидетельствовать о дефиците железа, фрагментации эритроцитов.

Наличие анемии позволило разделить исследуемые образцы крови на 5 групп сравнения: кровь практически здоровых доноров ($n=20$);

кровь пациентов с онкопатологиями ЖКТ с анемией ($n=14$); кровь пациентов с онкопатологиями ЖКТ без анемии ($n=15$); кровь с патологиями ЖКТ неонкологического генеза с анемией ($n=14$); кровь с патологиями ЖКТ неонкологического генеза без анемии ($n=15$).

Содержание гемоглобина в эритроцитах, размеры клеток оказывают существенное влияние на физические, в том числе акустические параметры клеток. В связи с этим в работе проведен сравнительный анализ акустических параметров эритроцитов пациентов с онкологическими и неонкологическими заболеваниями желудка и кишечника, а также различными патологиями ЖКТ, осложненными и не осложненными анемией.

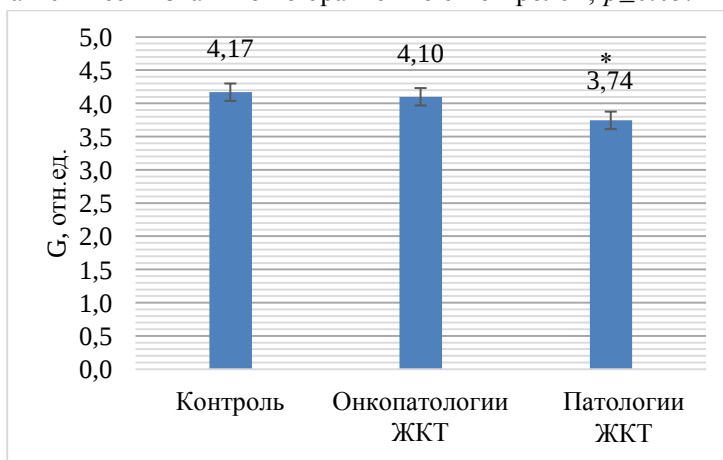
Обнаружено снижение показателя упругости эритроцитов у пациентов с неонкологическими заболеваниями ЖКТ по сравнению с таковым у пациентов с онкопатологиями желудка и кишечника, а также у практически здоровых доноров (рис. 1.)

Т а б л и ц а 2

Содержание эритроцитов, гемоглобина и эритроцитарные индексы крови пациентов с различными патологиями ЖКТ и практически здоровых доноров

Гематологические показатели	Контроль	Онкопатологии ЖКТ с анемией	Онкопатологии ЖКТ без анемии	Патологии ЖКТ с анемией	Патологии ЖКТ без анемии
RBC, $\cdot 10^{12}/л$	4.59 ± 0.23	4.42 ± 0.60	4.77 ± 0.43	3.95 ± 0.82	4.66 ± 0.40
HGB, г/л	138.65 ± 8.64	$100.50 \pm 11.02^*$	136.60 ± 11.25	$97.71 \pm 13.15^*$	138.60 ± 8.65
HCT, %	40.22 ± 2.23	$32.88 \pm 3.96^*$	41.82 ± 3.27	$30.55 \pm 4.18^*$	40.25 ± 2.27
MCV, фл	87.74 ± 3.15	$74.21 \pm 8.38^*$	87.93 ± 6.89	$77.55 \pm 13.39^*$	87.17 ± 3.17
MCH, пг	30.25 ± 0.91	$22.72 \pm 3.12^*$	28.60 ± 3.07	$25.61 \pm 5.41^*$	29.83 ± 1.39
RDWc, %	12.95 ± 0.50	$17.62 \pm 3.36^*$	15.59 ± 2.69	$17.41 \pm 1.96^*$	13.37 ± 1.09

Примечание. * – статистически значимо по сравнению с контролем, $p \leq 0.05$.



* – статистически значимо по сравнению с контролем, $p \leq 0.05$

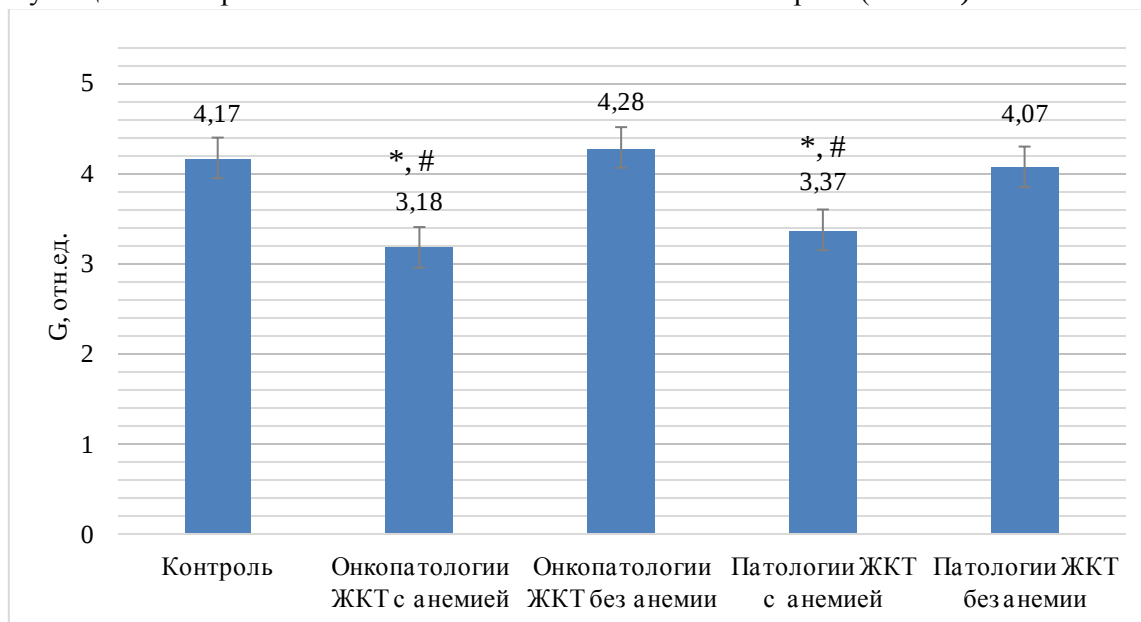
Рис. 1. Упругость эритроцитов (G) пациентов с патологиями желудка и кишечника онкологического и неонкологического генеза

Согласно литературным данным, упругость эритроцитов во многом зависит от вязкости внутриклеточного содержимого, в частности, от содержания гемоглобина в клетках [5]. В связи с этим проведен анализ упругости эритроцитов в зависимости от наличия/отсутствия анемии у пациентов с различными заболеваниями желудка и кишечника (рис. 2).

Показатель упругости эритроцитов снижался у пациентов с различными заболеваниями

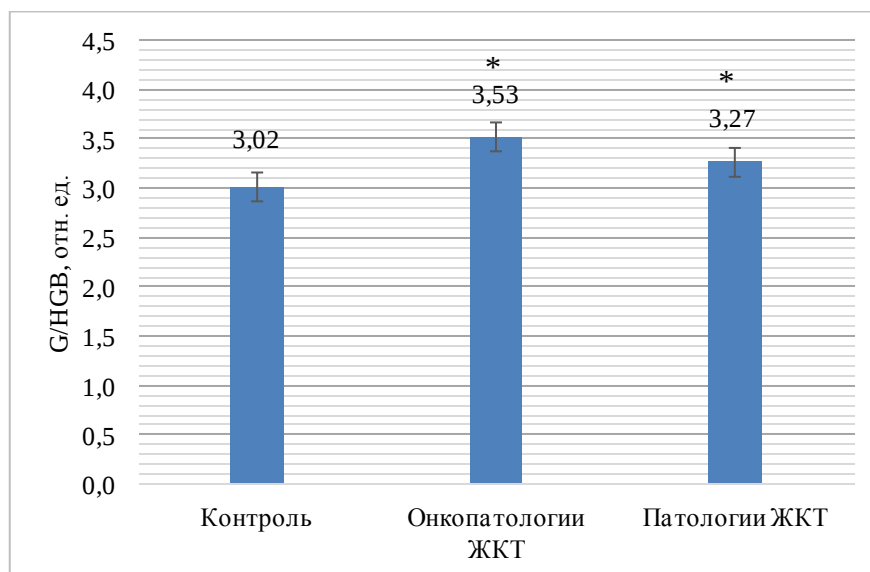
ЖКТ, осложненными анемией, как по сравнению с показателями в контроле, так и у пациентов с онкологическими и неонкологическими заболеваниями желудка и кишечника без анемии.

Вязко-эластичные свойства поверхности эритроцита (мембраны, гликокаликса, цитоскелета) можно оценить с помощью показателя упругости, соотношенного с концентрацией гемоглобина в крови (G/HGB).



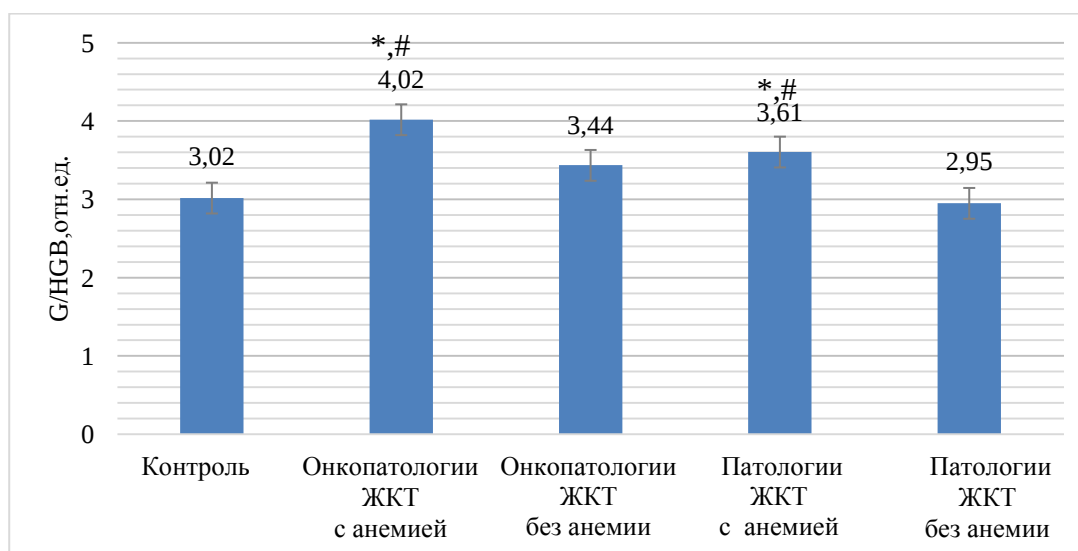
* – статистически значимо по сравнению с контролем, $p \leq 0.05$; # – статистически значимо по сравнению с патологиями без анемии, $p \leq 0.05$

Рис. 2. Упругость эритроцитов (G) пациентов с патологиями желудка и кишечника онкологического и неонкологического генеза с наличием/отсутствием анемии



* – статистически значимо по сравнению с контролем, $p \leq 0.05$

Рис. 3. Упругость эритроцитов (G/HGB) пациентов с патологиями желудка и кишечника онкологического и неонкологического генеза



* – статистически значимо по сравнению с контролем, $p \leq 0.05$; # – статистически значимо по сравнению с патологиями без анемии, $p \leq 0.05$

Рис. 4. Упругость эритроцитов (G/HGB) у пациентов с патологиями желудка и кишечника онкологического и неонкологического генеза с наличием/отсутствием анемии.

Этот показатель увеличивался у пациентов с различными заболеваниями ЖКТ по сравнению с контролем (рис. 3).

Обнаружены более выраженные изменения этого показателя у больных со злокачественными новообразованиями желудка и кишечника как осложненными, так и не осложненными анемией, по сравнению с патологиями ЖКТ неонкологического характера (рис. 4).

Упругость поверхности эритроцитов (G/HGB) увеличивалась у пациентов с различными заболеваниями ЖКТ, осложненными анемией. У пациентов с онкологическими заболеваниями желудка и кишечника, не осложненными анемией, наблюдали тенденцию к повышению этого показателя по сравнению с контролем. Более выраженное повышение упругости поверхности эритроцитов при онкологических заболеваниях желудка и кишечника по сравнению с показателями при заболеваниях ЖКТ неонкологического генеза может быть связано с эндогенной интоксикацией, нарушением про- и антиоксидантного равновесия и высоким уровнем воспалительных цитокинов в организме при онкологических заболеваниях [6–8].

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования метода акустической интерферометрии эритроцитов в оценке тяжести течения онкологических заболеваний желудка и кишечника, в том числе в комплексной диагностике наличия анемии – основного осложнения заболевания.

Авторы выражают искреннюю благодарность к.б.н. В.А. Клемину за оказание консультативной помощи при проведении акустических исследований.

Литература

1. Абдурахманов Д.Т. Железодефицитная анемия при заболеваниях желудочно-кишечного тракта // Фарматека. 2012. № 13. С. 9–14.
2. Dabrowski Z., Dybowski A.J., Marchewka A., Teległow A., Skotnicki A., Zduńczyk A., Aleksander P., Filar-Mierzwa K. Elongation index of erythrocytes, study of activity of chosen erythrocyte enzymes, and the levels of glutathione, malonyldialdehyde in polycythemia vera (PV) // Clin. Hemorheol. Microcirc. 2011. № 47(3). P. 169–176.
3. Муравьев А.В., Комлев В.Л., Михайлов П.В., Ахупкина А.А., Муравьев А.А. Деформация эритроцитов: роль в микроциркуляции // Ярославский педагогический вестник. 2013. № 2. С. 93–102.
4. Клемин В.А., Клемина А.В. Акустический анализатор «БИОМ» для безреагентной лабораторной медицинской диагностики // Известия ЮФУ. Технические науки. 2009. № 10 (99). С. 258–259.
5. Glaspy J. Update on safety of ESAs in cancer-induced anemia // J. Natl. Compr. Cancer Network. 2012. № 5 (10). P. 659–666.
7. Новик А.В. Анемия и метаболические расстройства у онкологических больных // Практическая онкология. 2009. № 3 (10). С. 131–140.
8. Щербатюк Т.Г., Давыденко Д.В., Новикова В.А. Уровень окислительного стресса и индекс антропогенной нагрузки как прогностические критерии исхода заболеваний у больных со злокачествен-

ными опухольями орофарингеальной зоны // СТМ. 2013. № 4 (5). С. 25–32.

References

1. Abdurakhmanov D.T. Iron deficiency anemia in digestive diseases. *Farmateka*, 2012, no. 13, pp. 9–14.
2. Dabrowski Z., Dybowicz A.J., Marchewka A., Skotnicki A., Zduńczyk A., Aleksander P., Filar-Mierzwa K. Elongation index of erythrocytes, study of activity of chosen erythrocyte enzymes, and the levels of glutathione, malonyldialdehyde in polycythemia vera (PV). *Clin. Hemorheol. Microcirc.*, 2011, no. 47 (3), pp. 169–176.
3. Muravyev A.V., Komlev V.L., Mikhaylov P.V., Akhapkina A.A., Muravyev A.A. Erythrocyte deformability: Role in microcirculation. *Yaroslavskiy pedagogicheskiy vestnik*, 2013, no. 2, pp. 93–102.

4. Klemin V.A., Klemina A.V. Acoustic analyzer "BIOM" for label-free laboratory medical diagnostics. *Izvestiya Yuzhnogo federalnogo universiteta, Tekhnicheskie nauki*, 2009, no. 10 (99), pp. 258–259.

5. Glaspy J. Update on safety of ESAs in cancer-induced anemia. *J. Natl. Compr. Cancer Network*, 2012, no. 5 (10), pp. 659–666.

6. Novik A.V. Anemia and metabolic disorders in cancer patients. *Prakticheskaya onkologiya*, 2009, no. 3 (10), pp. 131–140.

7. Shcherbatyuk T.G., Davydenko D.V., Novikova V.A. Oxidative stress level and anthropogenic load index as prognostic criteria of disease outcome in patients with oropharyngeal cancer. *Sovremennye tekhnologii v meditsine*, 2013, no. 4 (5), pp. 25–32.

ACOUSTIC INTERFEROMETRY OF RED BLOOD CELLS IN PATIENTS WITH MALIGNANT NEOPLASMS OF THE GASTROINTESTINAL TRACT ON THE BACKGROUND OF ERYTHROCYTE MANIFESTATIONS OF HEMATOLOGIC NEOPLASTIC SYNDROME

© A.I. Starodumova¹, T.A. Veselova, D.N. Belosludtsev²,
A.I. Samoylova, A.V. Klemina¹, A.P. Veselov¹

¹Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod,
23, prospekt Gagarina, 603950, Nizhny Novgorod, Russian Federation

²Volga District Medical Centre, Federal Medical-Biological Agency,
2, Nizhnevolzhskaya naberezhnaya, 603001, Nizhny Novgorod, Russian Federation

The development and introduction of methods in laboratory diagnostics and practice, allowing to assess the severity of the cancer and the presence of complications effectively and with minimal costs is actual nowadays. The oncological process is often accompanied by anemia, the consequences of which for the body are hemic hypoxia of organs and tissues and significantly affect the course of the pathological process. Metabolic, functional and structural changes of red blood cells, and also changes of their viscoelastic properties, including those caused by anemia, which occur in malignant tumours, lead to disruption of blood circulation and the development of tissue hypoxia, largely determine the severity of the disease, and can also be an additional prognostic criterion for malignant growth.

Changes in the physical parameters of red blood cells, in particular, the elasticity of cells, can be evaluated using ultrasonic methods of cell research.

The aim of the work is to assess the possibility of using acoustic interferometry to study the structural rearrangements of red blood cells in patients with cancer of the stomach and intestines, complicated and not complicated by anemia – the most common hematological paraneoplastic syndrome.

The material for the study were samples of venous blood of patients with oncological and non-oncological diseases of the stomach and intestines. Blood samples of practically healthy donors served as a control. To estimate the number, size of erythrocytes, hemoglobin content in them, hematological methods were used, to study the elasticity of erythrocytes – acoustic method.

On the basis of hemogram indicators, microcytic hypochromic anemia was diagnosed at half of patients with diseases of the gastrointestinal tract. The results of acoustic studies showed a decrease in the elasticity of red blood cells (G) in patients with various diseases of the stomach and intestines, complicated by anemia, due to a decrease in hemoglobin in red blood cells. The elasticity of the surface of red blood cells (G/HGB) increased in patients with various diseases of the gastrointestinal tract, complicated by anemia. In patients with cancer of the stomach and intestines, not complicated by anemia, there was a tendency to increase this figure compared with the control.

The obtained results indicate the possibility of using the method of acoustic interferometry of red blood cells in assessing the severity of oncological diseases of the stomach and intestines, including in the complex diagnosis of the presence of anemia, the main complications of the disease.

Keywords: acoustic interferometry, the elasticity of the red blood cells, cancer of the stomach and intestines.