

УДК 616.346.2.-008.851.7

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ АППЕНДИЦИТОМ

Лысов А.Е., Павлова Т.В.

НИУ БелГУ, Белгород, e-mail: toxa_1984@pochta.ru

В статье рассмотрены морфологические особенности эритроцитов венозной крови детей с острым аппендицитом, а также рельефа их мембран, изученные методом АСМ. Проведен сравнительный анализ ряда морфологических параметров эритроцитов при деструктивном и недеструктивном аппендиците в сопоставлении с контрольной группой, изучена динамика этих показателей в процессе лечения. Установлено, что увеличение диаметра эритроцита и его центрального углубления характерно для всех форм острого аппендицита. В то же время для деструктивного аппендицита характерно увеличение площади поверхности клетки в сравнении с контрольной группой. Указанные параметры, вероятнее всего, являются маркером интоксикации организма, наиболее целесообразно использование их не в качестве самостоятельного дифференциально-диагностического критерия, а как дополнительный критерий оценки тяжести состояния больного.

Ключевые слова: атомно-силовая микроскопия, эритроцит, аппендицит, дети

MORPHOLOGIC PECULIARITIES OF RED BLOOD CELLS IN CHILDREN WITH ACUTE APPENDICITIS

Lyssov A.E., Pavlova T.V.

NRU BelSU, Belgorod, e-mail: toxa_1984@pochta.ru

The article deals with morpho-functional peculiarities of venous red blood cells retrieved from children with acute appendicitis. The comparative analysis of red blood cell morphologic characteristics in destructive and non-destructive appendicitis was undertaken, their dynamics during treatment was studied. It is stated that diameter of red blood cells and their central concave increase in all cases of acute appendicitis while cell surface square growth is characteristic for acute destructive appendicitis. The named parameters seem to be markers of intoxication and should be applied not as independent criteria for differential diagnosis but as a supplementary patient's severity criteria.

Keywords: atomic force microscopy, erythrocyte, appendicitis, children

Несмотря на успехи в лечении и широкое применение современных диагностических методов, своевременная постановка показаний к хирургическому вмешательству до сих пор является трудной задачей даже для опытного хирурга, особенно когда речь идет о пациентах детского возраста [1, 3]. И по сей день не прекращается поиск дополнительных диагностических методов, которые позволят снизить риск проведения необоснованной аппендэктомии. Атомно-силовая микроскопия (АСМ) – сравнительно молодой метод исследования, и хотя возможности ее весьма широки, попытки внедрения АСМ в клиническую практику начались лишь недавно [2, 6, 7, 8]. В настоящее время описаны изменения эритроцитов крови при механической желтухе, выявлена их взаимосвязь со степенью интоксикации. Так, доказано увеличение диаметра эритроцитов при уменьшении радиуса их центрального углубления [2].

Целью настоящего исследования явилось изучение морфофункциональных особенностей эритроцитов венозной крови детей, оперированных по поводу острого аппендицита, а также их сравнительный анализ в зависимости от патоморфологической характеристики аппендицита и этапа лечения.

Материалы и методы исследования

Выполнены исследования эритроцитов венозной крови 35 детей, находившихся на лечении в Детской областной клинической больнице г. Белгорода с острым аппендицитом. 6 детей были прооперированы по поводу недеструктивного аппендицита. 29 детей оперированы по поводу деструктивных форм аппендицита. В работе нами использована классификация Колесова В.И. (1959) [4] как наиболее широко распространенная в клинической практике. Неравновесность выборок по объему отражает реальное соотношение указанных форм острого аппендицита в клинической практике. Контрольную группу составили 14 детей, поступивших в стационар с абдоминальным болевым синдромом, которым впоследствии диагноз острой хирургической патологии был исключен.

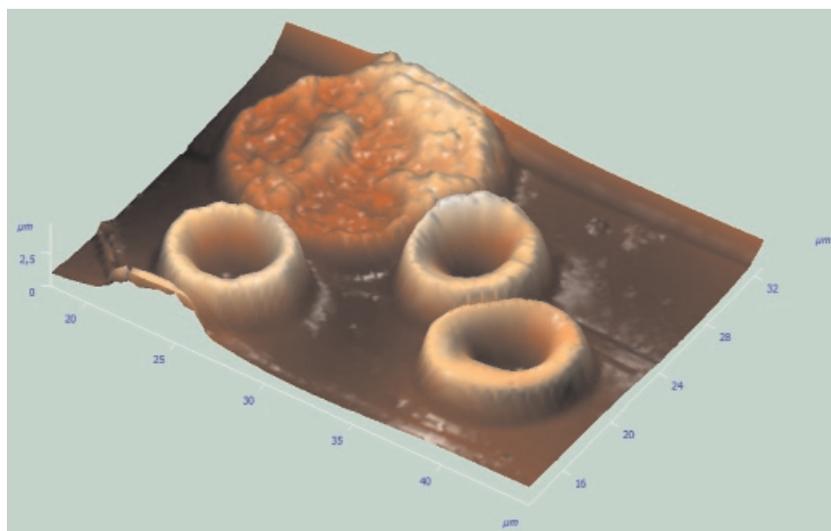
Забор крови производился с согласия родителей ребенка по стандартной методике путем пункции кубитальной вены. Кровь набиралась в стерильную одноразовую вакуумную пробирку с добавлением гепарина в дозе 10 ед./мл в день поступления и при выписке. Патоморфологические изменения стенки аппендикса изучали стандартными методами. Для оценки ультраструктуры и упругих свойств клеточной поверхности использовали атомно-силовой микроскоп NTEGRA Vita фирмы NT-MDT (г. Зеленоград).

Измеряли диаметр и высоту профиля клетки, то есть максимальную его высоту от подложки, глубину и диаметр центральной ямки эритроцитов; с помощью прилагающейся АСМ графической программы рассчитывались площадь поверхности и объем клетки.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программного пакета «Microsoft Office XP» методами параметрического анализа [5]. Определяли среднее (X), ошибку среднего (m) и среднеквадратичное отклонение (δ). Достоверность различий определяли по t -критерию Стьюдента. Уровень значимости p выбран менее 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Нами были получены изображения эритроцитов венозной крови детей с острым аппендицитом, полученные при поступлении и при выписке (рисунок).



3D-реконструкция поверхности клеток крови при поступлении у ребенка с острым деструктивным аппендицитом

При анализе микрорельефа поверхности эритроцитов при большом разрешении статистически значимых отличий между двумя группами, а также в пределах одной группы при поступлении и при выписке получено не было. В единичных случаях при поступлении у детей с острым деструктивным аппендицитом отмечалось большое количество пор до 5 нм диаметром. В 2 случаях – наличие глобул до 4–5 нм диаметром, однако, учитывая отсутствие повторяемости этих особенностей нанорельефа, указанные находки следует считать скорее артефактом. При анализе морфологии эритроцитов методом АСМ выявлен ряд статистически

достоверных отличий как при поступлении между двумя группами, так и в группе детей с деструктивным аппендицитом при поступлении и при выписке.

При сопоставлении морфофункциональных особенностей эритроцитов у детей с деструктивным и с недеструктивным аппендицитом обнаружено, что в первой группе достоверно при поступлении выше диаметр эритроцита ($7,85 \pm 0,36$ мкм при деструктивном аппендиците и $7,37 \pm 0,18$ – при катаральном, $p < 0,05$), а также диаметр центральной ямки эритроцита ($5,69 \pm 0,43$ мкм при деструктивном аппендиците и $5,1 \pm 0,28$ – при катаральном, $p < 0,05$).

Таблица 1

Статистически значимые отличия морфофункциональных особенностей эритроцитов у детей с острым деструктивным и недеструктивным аппендицитом ($p < 0,05$)

	Деструктивный аппендицит	Недеструктивный аппендицит
Диаметр эритроцита, мкм	$7,85 \pm 0,36$	$7,37 \pm 0,18$
Диаметр центральной ямки эритроцита, мкм	$5,69 \pm 0,43$	$5,1 \pm 0,28$

Помимо указанных отличий имеется тенденция к увеличению площади поверхности клетки ($98,83 \pm 10,54$ мкм² при деструктивном аппендиците и $91,36 \pm 6,44$ мкм² – при катаральном), уменьшению высоты эритроцита (534 ± 125 нм при деструк-

тивном аппендиците и 553 ± 105 нм – при катаральном) и глубины его центральной ямки (373 ± 114 нм при деструктивном аппендиците и 395 ± 155 нм – при катаральном) при практически одинаковом объеме клетки в обеих группах ($28,08 \pm 4,46$ мкм³

при деструктивном аппендиците и $28,46 \pm 2,86$ мкм³ – при катаральном)

Анализ динамики морфофункциональных особенностей эритроцитов у детей с острым деструктивным аппендицитом в процессе лечения выявил следующие характерные особенности. Площадь эритроцита при поступлении была достоверно выше ($98,83 \pm 10,54$ мкм² при поступлении и $89,05 \pm 8,24$ мкм² – при выписке, $p < 0,05$), объем клетки при поступлении также был

достоверно выше ($28,08 \pm 4,46$ мкм³ – при поступлении и $24,26 \pm 2,8$ мкм³ – при выписке, $p < 0,05$). Аналогичная динамика отмечена для диаметра центральной ямки эритроцита ($5,69 \pm 0,43$ мкм при поступлении и $5,35 \pm 0,34$ мкм – при выписке, $p < 0,05$). Изменения глубины центральной ямки имели обратную динамику – при поступлении она была меньше (373 ± 114 нм при поступлении и 464 ± 105 нм – при выписке, $p < 0,05$).

Таблица 2

Статистически значимые отличия морфофункциональных особенностей эритроцитов у детей с острым деструктивным аппендицитом при поступлении и при выписке ($p < 0,05$)

	Поступление	Выписка
Площадь эритроцита, мкм ²	$98,83 \pm 10,54$	$89,05 \pm 8,24$
Объем эритроцита, мкм ³	$28,08 \pm 4,46$	$24,26 \pm 2,8$
Диаметр центральной ямки эритроцита, мкм	$5,69 \pm 0,43$	$5,35 \pm 0,34$
Глубина центральной ямки эритроцита, нм	373 ± 114	464 ± 105

При сопоставлении морфофункциональных особенностей эритроцитов у детей с острым деструктивным аппендицитом при поступлении с контрольной группой выявлены следующие характерные особенности. Площадь эритроцита при деструктивном аппендиците была достоверно выше ($98,83 \pm 10,54$ мкм² при деструктивном аппендиците и $90,25 \pm 7,26$ мкм² – в контроле,

$p < 0,05$), диаметр клетки при деструктивном аппендиците также был достоверно выше ($7,84 \pm 0,35$ мкм при деструктивном аппендиците и $7,48 \pm 0,37$ мкм – в контроле, $p < 0,05$). Аналогичная динамика отмечена для диаметра центральной ямки эритроцита ($5,69 \pm 0,43$ мкм при деструктивном аппендиците и $5,33 \pm 0,25$ мкм – в контроле, $p < 0,05$).

Таблица 3

Статистически значимые отличия морфофункциональных особенностей эритроцитов у детей из контрольной группы и у детей с острым деструктивным аппендицитом при поступлении ($p < 0,05$)

	Деструктивный аппендицит	Контроль
Площадь эритроцита, мкм ²	$98,83 \pm 10,54$	$90,25 \pm 7,26$
Диаметр эритроцита, мкм	$7,84 \pm 0,35$	$7,48 \pm 0,37$
Диаметр центральной ямки эритроцита, мкм	$5,69 \pm 0,43$	$5,33 \pm 0,25$

Помимо указанных статистически достоверных отличий отмечена тенденция к увеличению диаметра клетки и уменьшению ее высоты (отношение диаметра клетки к ее высоте при поступлении $16,21 \pm 4,83$, при выписке $13,74 \pm 2,47$).

Подводя итог, можно утверждать, что увеличение диаметра эритроцита и его центрального углубления и характерно для всех форм острого аппендицита. В то же время для деструктивного аппендицита характерно увеличение площади поверхности. Учитывая, что и для некоторых других хирургических заболеваний, в частности, для обтурационной желтухи выявлены сходные изменения [2], указанные параметры, вероятнее всего, являются маркером интоксикации организма, наиболее целесообразно

использование их не в качестве самостоятельного дифференциально-диагностического критерия, а как дополнительный критерий оценки тяжести состояния больного.

Список литературы

1. Дронов А.Ф. Лапароскопическая аппендэктомия: (Обзор литературы и собственный опыт) / А.Ф. Дронов, В.И. Котловский, И.В. Поддубный // Эндоскоп, хирургия. – 2000. – № 3. – С. 16–20. Иллюстрированное руководство по эндоскопической хирургии / под ред. С.И. Емельянова. – М.: Мед. информ. агентство, 2004. – 218 с.
2. Особенности структурных параметров эритроцитов при атомно-силовой микроскопии у пациентов с механической желтухой / Н.В. Завада, В.Е. Борисенко, В.В. Груша, А.Л. Соловей // Медицина. – 2008. – № 2 (61). – С. 35–43.
3. Карасева О.В., Капустин В.А., Брянцев А.В. Лапароскопические операции при абсцедирующих формах аппендикулярного перитонита у детей // Детская хирургия. – 2005. – № 3. – С. 25–29

4. Колесов В.И. Острый аппендицит. – М.: Медгиз, 1959. – 290 с.
5. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. – М., 2006. – 312 с.
6. Girasole M., Dinarelli S., Boumis G. Structure and function in native and pathological erythrocytes: a quantitative view from the nanoscale. – *Micron*. – 2012 Dec;43(12).
7. Fornal M., Lekka M., Pyka-Fościak G., Lebed K., Grodzicki T., Wizner B., Styczeń J. Erythrocyte stiffness in diabetes mellitus studied with atomic force microscope // *Clin Hemorheol Microcirc.* 2006;35(1-2):273–6.
8. Musielak M. Red blood cell-deformability measurement: review of techniques // *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009;42(1).

References

1. Dronov A.F. Laparoskopicheskaia appendektomija: (Obzor literatury i sobstvennyj opyt) / A. F. Dronov, V.I. Kotlobovskij, I.V. Poddubnyj // *Jendoskop, hirurgija*. 2000. no. 3. pp. 16–20. Iljustrirovannoe rukovodstvo po jendoskopicheskoj hirurgii / pod red. S.I. Emel'janova. M.: Med. inform. agentstvo, 2004. 218 p.
2. Zavada N.V., Borisenko V.E., Grusha V.V., Solovej A.L. Osobennosti strukturnyh parametrovjeritocitov pri atomnosilovoj mikroskopii upacientov s mehanicheskoj zheltuhoj // *Medicina*. 2008 no. 2 (61). pp. 35–43.
3. Karaseva O.V., Kapustin V.A., Brjancev A.V. Laparoskopicheskie operacii pri abscedirujushhij formah appendi-

- kuljarnogo peritonita u detej // *Detskaja hirurgija*. 2005. no. 3. pp. 25–29.
4. Kolesov V.I. Ostryj appendicit. M.: Medgiz, 1959. 290 p.
5. Rebrova, O.Ju. Statisticheskij analiz medicinskih dannyh / O.Ju. Rebrova. M., 2006. 312 p.
6. Girasole M., Dinarelli S., Boumis G. Structure and function in native and pathological erythrocytes: a quantitative view from the nanoscale. *Micron*. 2012 Dec;43(12).
7. Fornal M., Lekka M., Pyka-Fościak G., Lebed K., Grodzicki T., Wizner B., Styczeń J. Erythrocyte stiffness in diabetes mellitus studied with atomic force microscope // *Clin Hemorheol Microcirc.* 2006;35(1-2):273–6.
8. Musielak M. Red blood cell-deformability measurement: review of techniques // *Clin Hemorheol Microcirc.* 2009;42(1).

Рецензенты:

Медведев Д.С., д.м.н., доцент, с.н.с., ФГУП «НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России, Ленинградская обл.;

Суворова К.Н., д.м.н., профессор, профессор-консультант медицинского центра «Ваша клиника» ООО «БелМедИнвест», г. Москва.

Работа поступила в редакцию 18.07.2013.