

генерируют супероксидные радикалы со скоростью $0,28 \pm 0,04$ нмоль/г опухолевой тк. •мин., аденокарциномы прямой кишки – $0,48 \pm 0,03$ нмоль/г опухолевой тк. •мин. При добавлении препарата «Бента» этот показатель снизился до значений $0,35 \pm 0,05$ нмоль/г опухолевой тк. •мин. Показатель супероксид-генерирующей активности НАДФ•Н-оксидазы у доноров определялся на уровне $0,23 \pm 0,03$ нмоль/ 10^3 клеток•мин., тогда как у больных раком прямой кишки активность нейтрофилов составила $0,63 \pm 0,09$ нмоль/ 10^3 клетин•мин. Добавление препарата «Бента» в суспензию нейтрофилов сопровождалось снижением указанного показателя до $0,45 \pm 0,06$ нмоль / 10^3 клеток•мин.

Выводы. Обнаружена новая характеристика фармакопейного продукта глины «Бента», а именно ее способность выступать в качестве перехватчика супероксидных радикалов, генерируемых иммунокомпетентными клетками крови больных раком прямой кишки и источниками клеток паренхиматозных структур, в частности аденокарциномой прямой кишки.

Ключевые слова: глина, супероксидный радикал, нейтрофилы, рак прямой кишки, реабилитация.

S.A. Misyak¹, S.M. Lukin¹, V.V. Golotiuk², P.L. Kornienko³, V.V. Tavokin³, A.V. Voyk¹, A.P. Burlaka¹

The Influence of Drug Made from Bentonitic Clay on the Rate of Generation of Superoxide Radicals by the Tumor Tissue and Blood Neutrophils in Patients with Rectal Cancer

¹ R.E. Kavetsky Institute of Experimental Pathology, Oncology and Radiology, Kyiv, Ukraine

² Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

³ Scientific laboratory "Harmony", UKRTEHMED, Kyiv, Ukraine

Abstract. The objective of the research was to ascertain the efficacy of the pharmacopoeial preparation made from bentonitic clay as an interceptor of superoxide radicals generated by immunocompetent

blood cells and tumor tissue in patients with rectal cancer.

Materials and methods. Research was conducted on tumors and venous blood samples taken from 12 patients with moderately differentiated rectal adenocarcinoma. The superoxide-generating NADPH oxidase activity of isolated neutrophils and tumor tissue under the influence of medical preparation made from bentonitic clay was investigated by means of electron paramagnetic resonance using spin trap 1-hydroxy-2,2,6,6-tetramethyl-4-oxypiperidine at room temperature on computerized EPR spectrometer RE-1307. Rectum mucosa samples taken at a distance of 3-4 cm from the tumor and donor leukocytes were used as controls.

Results. The results revealed that the mitochondria of intact colon tissue generated superoxide radicals at a speed of 0.28 ± 0.04 nmol/g•min, while in adenocarcinoma of the rectum the level of generation was 0.48 ± 0.03 nmol/g•min. The addition of medical preparation made from bentonitic clay allowed us to reduce the level of superoxide generation by 0.35 ± 0.05 nmol/g•min. The indicator of the superoxide-generating NADPH oxidase activity of donor neutrophils was determined at the level of 0.23 ± 0.03 nmol/ 10^3 cells•min, and in patients with rectal cancer activity of neutrophils was at the level of 0.63 ± 0.09 nmol/ 10^3 cells•min. The addition of medical preparation made from bentonitic clay to a suspension of neutrophils was accompanied by a decrease of this indicator by 0.45 ± 0.06 nmol/ 10^3 cells•min.

Conclusions. New characteristic feature of the pharmacopoeial preparation made from bentonitic clay was found – its ability to act as an interceptor of superoxide radicals generated by both immunocompetent blood cells and parenchymal tumour cells in patients with adenocarcinoma of the rectum.

Keywords: clay, superoxide radicals, neutrophils, rectal cancer, rehabilitation.

Надійшла 20.04.2015 року.

УДК 618.3+616-06+616-002.4

Остафійчук С.О., Геращенко С.Б., Остафійчук А.Р.

Морфометричне дослідження еритроцитів у вагітних жінок з преєклампсією

Кафедра акушерства і гінекології ім. І.Д. Ланового (зав. каф. – д.мед.н., проф. Генік Н.І.), voloshka76@rambler.ru

Кафедра гістології, цитології та ембріології (зав. каф. – д.мед.н., проф. Геращенко С.Б.)

Івано-Франківського національного медичного університету

Резюме. Проблема преєклампсії в акушерстві продовжує залишатись актуальною у зв'язку з високою частотою даного ускладнення, збільшення відсотку тяжких форм, резистентністю до традиційних методів лікування, значними материнськими і перинатальними втратами. Незважаючи на сучасні досягнення в розкритті механізмів розвитку преєклампсії, окремі його ланки продовжують залишатися недостатньо вивченими, що обмежує патогенетичну спрямованість терапії і не дозволяє досягти бажаного успіху. **Метою** нашої роботи було дослідження морфометричних властивостей еритроцитів у вагітних жінок з преєклампсією. **Матеріали і методи.** Нами обстежено 23 вагітних: 11 жінок з преєклампсією середнього ступеня тяжкості і 12 - тяжкого з термінами гестації 28-39 тижнів. Контролем слугували 11 жінок з фізіологічним перебігом гестації. Середній вік жінок склав $22,9 \pm 0,8$ роки. Морфометричне дослідження еритроцитів проводили за допомогою аналізатора зображень, який складається з мікроскопа Люмам Р-8 з мікрофотонасадкою МФН-10-1, оптичного перехідного пристрою, телевізійної камери Косом (digital CCD color camera KCC-310 ND/PD), фреймграббера з програмним забезпеченням Fly video серії EZ та персонального комп'ютера. Для вимірювання метричних характеристик використовували програмне забезпечення UTHSCSA Image Tool® for Windows® (version 2.00) в інтерактивному режимі з використанням об'єктива x40 і фотоокуляра x1,7. Зображення еритроцитів, отримані шляхом послідовного сканування мазків, забарвлених за Романовським-Гімза, записувались у вигляді окремих *.tiff-файлів. Отриманий цифровий матеріал обробляли статистично з використанням про-

грам Microsoft Excel 2000 та Statistica 5.11. **Результати.** Встановлено, що при преєклампсії середнього ступеня переважають еритроцити середнього і малого діаметру, в яких виявляються ознаки більш вираженої деформації, ніж у клітинах великих розмірів. А при тяжкій преєклампсії виявляється різке зростання еритроцитів великого діаметру, серед яких відзначається виражений анізоцитоз з перевагою клітин з нехарактерними для контролю співвідношеннями площі та коефіцієнту форми профілю. **Висновки.** Відзначено, що з розвитком преєклампсії прогресують зміни морфометричних характеристик еритроцитів у бік збільшення їх дегенеративних форм з обмеженою функціональною спроможністю, що знаходяться в прямій залежності від тяжкості патологічного процесу.

Ключові слова: вагітність, преєклампсія, морфометрія еритроцитів.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень.

Згідно із сучасними уявленнями в етіопатогенезі преєклампсії вагітних важливою ланкою є порушення у системі гемокріорегуляції, генералізація яких призводить до розвитку поліорганної недостатності. Генералізований спазм капілярів, зниження швидкості кровоплину, підвищення в'язкості крові, осідання на внутрішній оболонці судин формених елементів призводить до закупорки термінальних артерій, в результаті чого розвиваються гіперперфузія тканин, гіпоксичні та ішемічні зміни в них [1, 2]. Для діагностики порушень

реологічних властивостей крові при різних захворюваннях дослідники користуються таким показником як морфометрія еритроцитів, що є проявом порушення їх властивості до змін форми або конфігурації [3, 4]. В нормі еритроцити, деформуючись, легко переміщуються по капілярах, діаметром менше їх власного. Саме деформованість еритроцитів є однією з головних властивостей, що визначає тривалість їх життя, а її порушення сприяє розладу гемореології і метаболізму в прилеглих до капілярів тканинах. Значне зменшення деформованості еритроцитів пов'язано з порушенням їх цитоархитектоніки і перетворенням дискоїдних (двоувігнутих) форм, як найбільш оптимальних, у вигадливі – стоматоцити, ехіноцити, які на кінцевому етапі трансформуються у сфероцити (кулясті форми), лізуються, розпадаючись на уламки клітин. Збільшення числа ехіноцитів завжди супроводжується підвищенням в'язкості крові, утворенням мікротромбів, які призводять до порушення периферичного кровоплину. Крім того, ці ригідні клітини, через їх нещільний контакт з ендотелієм судин, не можуть повноцінно брати участь в газообміні, що супроводжується гіпоксією і пошкодженням тканин [4].

Значний вплив на деформованість еритроцитів та зміни їх метричних характеристик виявляють коливання осмотичності та колоїдно-осмотичного тиску крові, причиною яких є зміни концентрації електролітів і білкового складу плазми. Набуття еритроцитами патологічних вигадливих форм різко посилюються при змінах кислотно-лужної рівноваги крові, зниженні рН і, особливо, при падінні кисневої ємності крові – гіпоксемії. При кисневому голодуванні еритроцити інтенсивно продукують надлишок пірувату і лактату, які, у свою чергу, знижують еластичність їх мембран [5].

Отже, враховуючи те, що метаболічні процеси, які перебігають в еритроциті при гіпоксії відображають реакцію клітин на рівні цілісного організму, морфометричні дослідження червонокривців – їх форми, площі, периметра та коефіцієнта форми – можуть служити доказом мембранодеструктивних процесів при преєклампсії.

Метою нашої роботи було дослідження морфометричних властивостей еритроцитів у вагітних жінок з преєклампсією.

Матеріал і методи дослідження

Нами проведено обстеження мазків крові 23 вагітних жінок із преєклампсією середньої тяжкості і 12 – тяжкої з термінами вагітності 28-39 тижнів у віці від 18 до 32 років. Контролем слугували 11 жінок з фізіологічним перебігом гестації.

Морфометричне дослідження еритроцитів проводили за допомогою аналізатора зображень, який складається з мікроскопа Люмам Р-8 з мікрофотонасадкою МФН-10-1, оптичного перехідного пристрою, телевізійної камери Косом (digital CCD color camera KCC-310 ND/PD), фреймграббера з програмним забезпеченням Fly video серії EZ та персонального комп'ютера. Для вимірювання метричних характеристик використовували програмне забезпечення UTHSCSA Image Tool[®] for Windows[®] (version 2.00) в інтерактивному режимі з використанням об'єктива x40 і фотоокуляра x1,7. Для калібрування аналізатора зображень використовували тестовий зразок „МИРА” (ГК7.216.028-01, виробництво НДІ „Квант”). Зображення еритроцитів, отримані шляхом послідовного сканування мазків, забарвлених за Романовським-Гімза, записувались у вигляді окремих *.tiff-файлів. В інтерактивному режимі вимірювались площа (S, мкм²) та периметр (P, мкм) профілю еритроцита. Обчислювався коефіцієнт форми еритроцита (F, відн. од.) за формулою [6]:

$F = P^2 / 4\pi S$; де: F – коефіцієнт форми; P – периметр; S – площа еритроцита.

Він характеризує наскільки форма фігури еритроцита відрізняється від форми кола. В нормі коефіцієнт форми наближується до 1,0. Отриманий цифровий матеріал обробляли статистично на ПК „Pentium-III” з використанням програм Microsoft Excel 2000 та Statistica 5.11.

Результати дослідження та їх обговорення

Морфометричне дослідження еритроцитів мазків крові

Таблиця 1. Морфометричне дослідження еритроцитів у вагітних із преєклампсією (M±m)

Досліджувані показники	Контроль (n=11)	Преєклампсія середнього ступеня (n=11)	Преєклампсія тяжкого ступеня (n=12)
Периметр профілю, мкм	27,33±0,12	23,08±0,15*	31,40±0,19*
Площа профілю, мкм ²	47,46±0,29	35,52±0,41*	52,41±0,39*
Коефіцієнт форми профілю, відн. од.	1,26±0,01	1,38±0,01*	1,52±0,01*

Примітки: * – вірогідність показника відносно контролю (p<0,001)

вагітних з преєклампсією середнього ступеня тяжкості виявило вірогідне зменшення середнього значення периметру клітин на 15,6 % (p<0,001) та площі профілю еритроцитів на 15,2 % (p<0,001), порівняно з контрольною групою (табл. 1). Спостерігається зменшення піку гістограми розподілу еритроцитів за величиною показника площі профілю вліво (рис. 1) за рахунок значного зростання відсотка клітин площею 20,0-40,0 мкм², які складають (71,12±1,33) %, що на 58,7 % (p<0,001) перевищує показники контролю.

Привертає увагу наявність у мазках великої кількості дрібних клітин патологічних форм (овалоцити, ехіноцити, стоматоцити, акантоцити). Останнє зумовлює зростання середнього значення коефіцієнта форми профілю еритроцитів на 8,8 % (p<0,001). При збереженні унімодального характеру гістограми розподілу еритроцитів за величиною показника коефіцієнта форми профілю еритроцитів (рис. 2) він набуває більш рівномірного вигляду. При цьому частка деформованих клітин з коефіцієнтом форми, що перевищує 1,6, складає (24,81±0,17) %, що на 20,4 % (p<0,001) перевищує показники контролю.

У хворих цієї групи еритроцитарний пул характеризувався значною гетерогенністю. Це виявляється при аналізі кореляційних співвідношень між площею профілю та коефіцієнтом форми еритроцитів. У вагітних з преєклампсією середньої тяжкості, в еритроцитах середнього і малого діаметру виявляються ознаки більш вираженої деформації, ніж у клітинах великих розмірів (рис. 3.б). У зв'язку з цим вказане співвідношення описується формулою $F = 1,644 - 0,004 \times S$ (коефіцієнт кореляції $r = -0,089$). Еритроцити малого діаметру здебільшого слабо забарвлені, з розширеною зоною просвітлення, що вказує на низький рівень гемоглобінізації.

При дослідженні мазків крові вагітних із тяжкою преєклампсією виявляється виражений анізоцитоз з перевагою

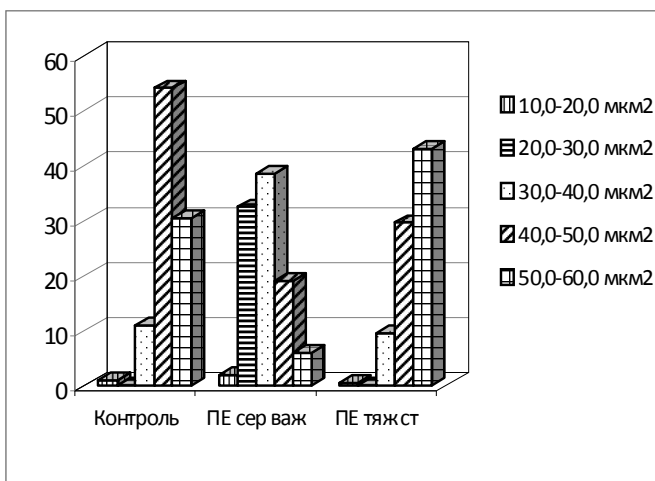


Рис. 1. Розподіл еритроцитів вагітних із преєклампсією за величиною площі профілю

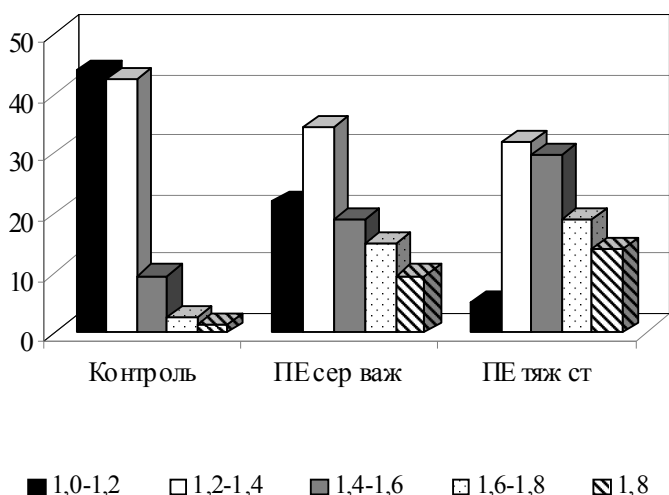


Рис. 2. Розподіл еритроцитів вагітних з преєклампсією за величиною коефіцієнта форми профілю

еритроцитів великого діаметру. Серед них спостерігається велика кількість клітин з ознаками дегенерації – акантоцитів, овалоцитів, стоматоцитів, які погано або нерівномірно сприймають барвник. За допомогою морфометричного дослідження встановлено, що, на відміну від преєклампсії середнього ступеня, у хворих цієї групи спостерігається зростання, порівняно з контролем, середніх значень величини периметру та площі профілю еритроцитів відповідно на 15,9% ($p < 0,001$) і 10,4% ($p < 0,001$). При цьому відзначається зміщення вправо піку гістограми розподілу еритроцитів за величиною показника площі профілю клітин, яке відбувається за рахунок незначного зменшення ($p < 0,001$) частки клітин з площею профілю до 40,0 мкм² (на 3,5%) та значно більш вираженого перекалібрування еритроцитів площею 40,0-50,0 мкм². Звертає на себе увагу значне - з ($3,40 \pm 0,13$)% до ($17,78 \pm 0,52$)% - зростання ($p < 0,001$) частки клітин великого діаметру, площа профілю яких перевищує 60 мкм².

Наявність великої кількості патологічних форм еритроцитів зумовлює зростання на 8,8% ($p < 0,001$), порівняно з контролем, середнього значення коефіцієнта форми їх профілю. При цьому частка еритроцитів, коефіцієнт форми профілю яких перевищує 1,6, зростає з ($4,40 \pm 0,13$)% у контролі до ($33,20 \pm 0,76$)% ($p < 0,001$). Внаслідок цього гістограма розподілу еритроцитів за величиною цього показника виявляє тенденцію до зміщення вправо і характеризується більш рівномірним розподілом клітин різних метричних субпопуляцій. Внаслідок вказаних порушень популяція еритроцитів характеризується значним поліморфізмом, з'являються клітини з нехарактерними для контролю співвідношеннями площі та коефіцієнту форми профілю, яке описується формулою $F = 1149 + 0,007 \times S$ (коефіцієнт кореляції $r = 0,230$) (рис. 3в).

Отже, компенсаторна реакція еритроцитів, що проявляється прагненням до збільшення площі для виконання ними основної газотранспортної функції, призводить до зміни форми і структури мембран, що в результаті призводить до зниження їх механічної та осмотичної стійкості, зростання чутливості до гемолізу. Таким чином вони стають ідеальним субстратом для запуску складного ланцюга дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові. Великі розміри, шипоподібна форма

та втрата властивостей до конформації „еритроцитів, що старіють” сприяють тому, що вони легко затримуються у звужених судинах системи мікроциркуляції з розвитком складж-синдрому і мікротромбоутворення.

Висновки

У вагітних з преєклампсією середньої тяжкості переважають еритроцити середнього і малого діаметру, в яких виявляються ознаки більш вираженої деформації, ніж у клітинах великих розмірів. При тяжкій преєклампсії виявляється різке зростання еритроцитів великого діаметру, серед яких відзначається виражений анізоцитоз з перевагою клітин з нехарактерними для контролю співвідношеннями площі та коефіцієнту форми профілю.

Отже, з розвитком преєклампсії прогресують зміни морфометричних характеристик еритроцитів у бік збільшення їх дегенеративних форм з обмеженою функціональною спроможністю, що знаходяться в прямій залежності від тяжкості патологічного процесу.

Перспективи подальших досліджень

Перспективним є дослідження динаміки конформаційної

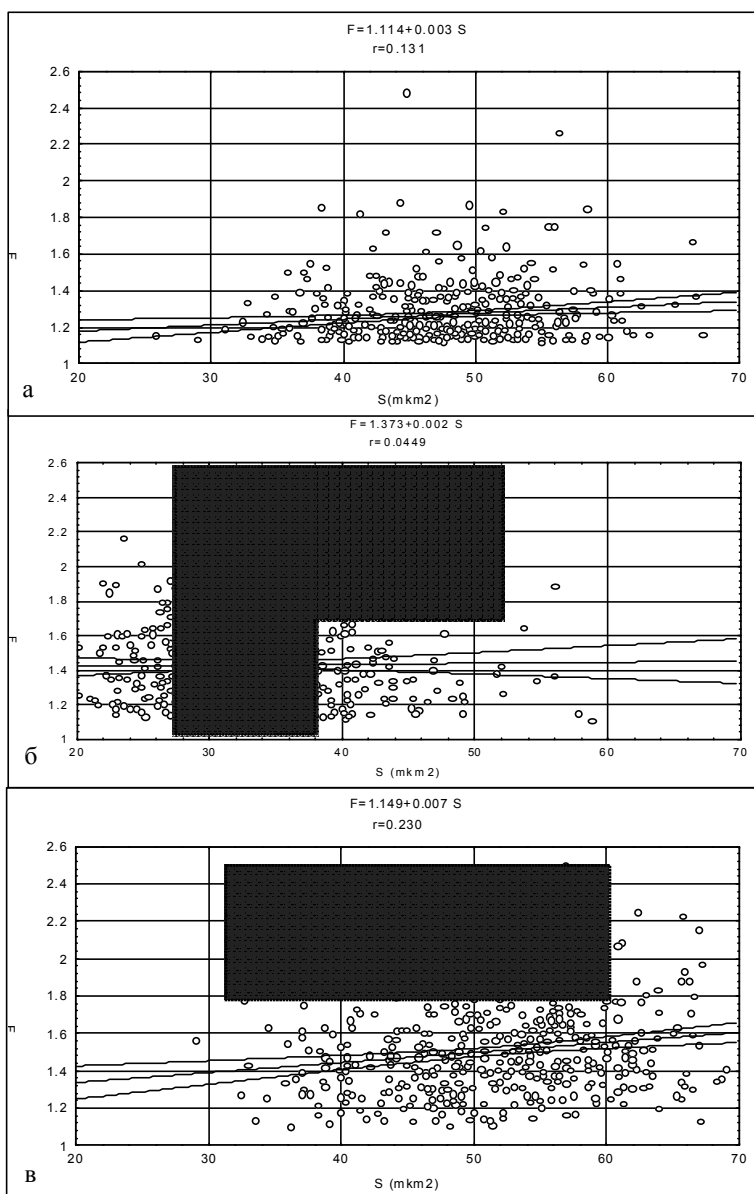


Рис. 3. Кореляційні співвідношення між показниками площі та коефіцієнту форми профілю еритроцитів у контролі (а), при преєклампсії середньої тяжкості (б), при преєклампсії тяжкого ступеня (в). Позначення: ■ еритроцити з порушеними метричними співвідношеннями

здатності еритроцитів при преєклампсії під впливом лікування.

Література

1. Иванов И. И. Преэклампсия беременных: особенности патогенеза, тактики ведения / И. И. Иванов, М. В. Черипко, Н. В. Косолапова, Е. Н. Прохан // Таврический медико-биологический вестник – 2012. – Т. 15, № 2. – С. 273-286.

2. Diagnosis, Evaluation, and Management of the Hypertensive Disorders of Pregnancy. Executive Summary. SOGC Clinical Practice Guideline // Obstet. Gynaecol. Can. – 2014. - № 36(5). – P. 416-438.

3. Глухова Т.Н. Особенности изменений реологических свойств крови у беременных с гестозом различной степени тяжести / Т.Н. Глухова, Е.В. Понукалина, Н.П. Чеснокова // Успехи современного естествознания. – 2003. – № 12 – С. 15-19.

4. Вохминцев А.П. Деформируемость эритроцитов и способы ее клинической диагностики / А.П. Вохминцев, Р.Р. Сайфиев, О.В. Фролова // Современные наукоемкие технологии. – 2004. – № 3 – С. 54-55.

5. К вопросу о соотношении количества эритроцитов и их размеров в периферической крови / Шмаров Д.А., Соболевская Л.В., Скрипка А.В., Левина Т.Н., Рябенкова О.И., Козинец Г.И.. - Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. - №4. – С.43-45.

Остафійчук С.А., Геращенко С.Б., Остафійчук А.Р.

Морфометрическое исследование эритроцитов у беременных женщин с преэклампсией

Кафедра акушерства и гинекологии им. И.Д. Ланового (зав. каф. – д.мед.н., профессор Генюк Н.И.), voloshka76@rambler.ru

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии (зав. каф. – д.мед.н., профессор Геращенко С.Б.)

Ивано-Франковского национального медицинского университета

Резюме: Проблема преэклампсии в акушерстве продолжает оставаться актуальной в связи с высокой частотой данного осложнения, увеличения процента тяжелых форм, резистентностью к традиционным методам лечения, а значительные материнские и перинатальные потери превращают эту патологию в важную медико-социальную проблему государственного уровня. Несмотря на современные достижения в раскрытии механизмов развития преэклампсии, отдельные его звенья продолжают оставаться недостаточно изученными, что ограничивает патогенетическую направленность терапии и не позволяет достичь желаемого успеха.

Целью нашей работы было исследование морфометрических свойств эритроцитов у беременных женщин с преэклампсией.

Материалы и методы. Нами обследовано 23 беременных: 11 женщин с преэклампсией средней степени тяжести и 12 - тяжелой со сроками гестации 28-39 недель. Контролем послужили 11 женщин с физиологическим протеканием беременности. Средний возраст женщин составил $22,9 \pm 0,8$ года. Морфометрические исследования эритроцитов проводили с помощью анализатора изображений, состоящий из микроскопа Люмам Р-8 с микрофото-насадкой МФН-10-1, оптического переходного устройства, телевизионной камеры Косом (digital CCD color camera KCC-310 ND / PD), фреймграббера с программным обеспечением Fly video серии EZ и персонального компьютера. Для измерения метрических характеристик использовали программное обеспечение UTHSCSA Image Tool® for Windows® (version 2.00) в интерактивном режиме с использованием объектива x40 и фотоокуляра x1,7. Изображение эритроцитов, полученные путем последовательного сканирования мазков, окрашенных по Рома-

новскому-Гимза, записывались в виде отдельных **.tff-файлов. Полученный цифровой материал обрабатывали статистически на ПК "Pentium-IV" с использованием программ Microsoft Excel 2000 и Statistica 5.11. **Результаты.** Установлено, что при преэклампсии средней степени преобладают эритроциты среднего и малого диаметра, в которых обнаруживаются признаки более выраженной деформации, чем в клетках больших размеров. А при тяжелой преэклампсии оказывается рост эритроцитов большого диаметра, среди которых отмечается выраженный анизозитоз с преобладанием клеток с нехарактерными для контроля соотношениями площади и коэффициента формы профиля. **Выводы.** Отмечено, что с развитием преэклампсии прогрессируют изменения морфометрических характеристик эритроцитов в сторону увеличения их дегенеративных форм с ограниченной функциональной способностью, находящихся в прямой зависимости от тяжести патологического процесса.

Ключевые слова: беременность, преэклампсия, морфометрия эритроцитов.

S.O. Ostafichuk, S.B. Heraschenko, A.R. Ostafichuk

The Morphometric Study of Red Blood Cells in Pregnant Women with Preeclampsia

Department of Obstetrics and Gynecology named after I.D. Lanoviy (Head of the Department - PhD, Professor N.I. Genyk)

Department of Histology, Cytology and Embryology (Head of the Department - PhD, Professor S.B. Heraschenko)

Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine

voloshka76@rambler.ru

Abstract. The problem of preeclampsia is still relevant in obstetrics because of the high frequency of complications, severe and atypical forms, resistance to traditional methods of treatment and significant maternal and perinatal deaths. Despite advancements in revealing the mechanisms of preeclampsia, some of its units remain poorly understood and limit the pathogenic therapy. **The objective of the research** was to study the morphological properties of red blood cells in pregnant women with preeclampsia. **Materials and Methods.** We examined 23 pregnant women: 11 women with moderate preeclampsia and 12 women with severe preeclampsia at 28-39 weeks of gestation. The control group included 11 women with normal pregnancy. The average age of women was 22.9 ± 0.8 years. The morphometric study of red blood cells was performed using image analyzer, which consisted of a microscope Lyumam P-8, optical adapter, camera Koscom (digital CCD colour camera KCC-310 ND / PD) and PC. Software UTHSCSA Image Tool® for Windows® (version 2.00) was used for measuring the metric characteristics of red blood cells. Digital material was processed using Microsoft Excel 2000 and Statistica 5.11. **Results.** In moderate preeclampsia red blood cells of small and medium diameter with signs of severe defects dominated. In severe preeclampsia the number of red blood cells of large diameter increased. Anisocytosis was detected, red blood cells with uncharacteristic ratio of the surface area and shape factor of a profile dominated. **Conclusions.** There was noted that the development of preeclampsia caused the progression of changes in morphometric characteristics of erythrocytes toward increase in their degenerative forms with limited functional capacity which were directly related to the severity of the pathological process.

Keywords: pregnancy, preeclampsia, morphometry of erythrocytes.

Надійшла 23.03.2015 року.