

УДК 616.12-005:4:616.155.194.1+616.379-008.64]-053-08

М. Ю. Коломоєць*
Н. Д. Павлюкович
О. Г. Ушенко**
В. М. Ходоровський
І. В. Трефаненко

Буковинський державний медичний
 університет, м. Чернівці,
 * - Державна наукова установа
 «Науково-практичний центр
 профілактичної та клінічної медицини»
 ДУС, м. Київ,

** - Чернівецький національний
 університет ім. Ю. Федьковича,
 м. Чернівці

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕРИТРОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ІШЕМІЧНУ ХВОРОБУ СЕРЦЯ ІЗ СУПУТНИМИ АНЕМІЄЮ ТА ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2-ГО ТИПУ: МОЖЛИВОСТІ ЛАЗЕРНОЇ ПОЛЯРИМЕТРІЇ

Ключові слова: еритроцит,
 ішемічна хвороба серця, цукровий
 діабет, анемія, фур'є-фазометрія.

Резюме. У статті висвітлені сучасні можливості застосування методів лазерної поляриметрії еритроцитарної суспензії з метою об'єктивізації змін морфо-функціональних властивостей еритроцитів людини за умов поєданого перебігу ішемічної хвороби серця, цукрового діабету 2-го типу та анемічного синдрому.

Вступ

Численними дослідженнями доведена виключна роль гемореологічних та мікроциркуляторних порушень у патогенезі багатьох захворювань [6, 7]. У розладах реологічних властивостей крові, що спостерігаються при ішемічній хворобі серця (ІХС), цукровому діабеті 2-го типу (ЦД), еритроцитам належить важлива роль, оскільки вони складають 45% від об'єму цієї полідисперсної системи і суттєво впливають на біофізичні властивості крові. Відомо, що нормальне чи патологічне функціонування системи мікроциркуляції визначається станом в'язкопружних властивостей мембран еритроцитів [1]. Зміни функціонального стану червонокривців можуть давати певну інформацію про ступінь вираженості й характер патологічного процесу.

Аналіз даних літератури показав, що на сьогоднішній день актуальною є розробка методів дослідження поля розсіяного випромінювання оптично-активними біологічними середовищами з метою отримання нової інформації про їх структуру [4, 8].

Лазерне випромінювання в процесі взаємодії з біологічним шаром може поглинатися та розсіюватися. Кожний з цих процесів несе інформацію про мікро- і макроструктуру цього середовища [5]. Найбільш поширеними і достатньо апробованими є спектрофотометричні методи, засновані на аналізі просторових змін інтенсивності поля розсіяного лазерного випромінювання оптично-неоднорідними біологічними середовищами.

Мета дослідження

Вивчити морфо-функціональні властивості еритроцитів при поєданому перебігу ІХС, ЦД та анемічного синдрому (АС) у хворих літнього та старечого віку.

Матеріал і методи

За допомогою сучасних інструментальних неінвазивних методів дослідження проведено комплексне обстеження 60 пацієнтів літнього та старечого віку, що перебували на стаціонарному лікуванні з приводу ІХС на фоні супутнього ЦД та АС. Контрольну групу для порівняльних досліджень склали 12 пацієнтів з ІХС без супутнього ЦД та нормальним рівнем гемоглобіну. ІХС була представлена стабільною стенокардією напружених II та III функціонального класу (за класифікацією Канадської асоціації кардіологів, 1976 р.), післяінфарктним кардіосклерозом у хворих, що було документовано електрокардіографічно до моменту дослідження. Серцева недостатність відповідала II А стадії за Стражеско М.Д. і Василенко В.Х. (1935 р.). За анемію вважали рівень гемоглобіну нижче 130 г/л у чоловіків та 120 г/л у жінок (WHO's Recommendations, 2003). Діагноз ЦД був виставлений хворим під час попередньої консультації ендокринолога, на момент обстеження діабет у всіх обстежуваних був компенсований.

Хворі основної групи були розподілені на три підгрупи по 20 чоловік у кожній: I – хворі на ІХС з ЦД, II – ІХС + супутній АС, III – пацієнти із поєднаним перебігом ІХС, АС та ЦД 2-го типу.

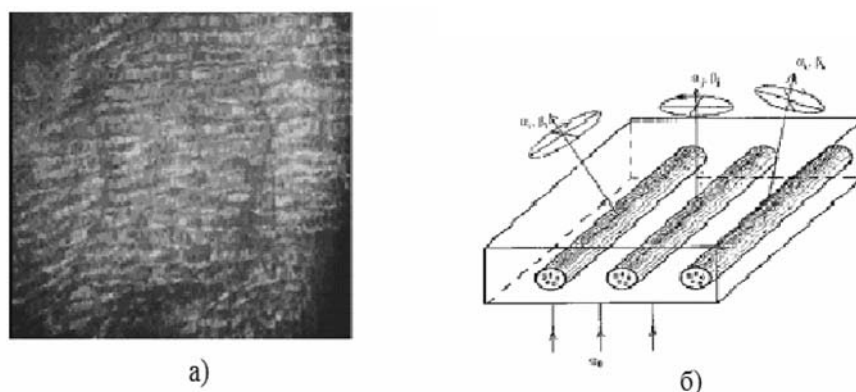


Рис. 1. Модель будови біологічної тканини

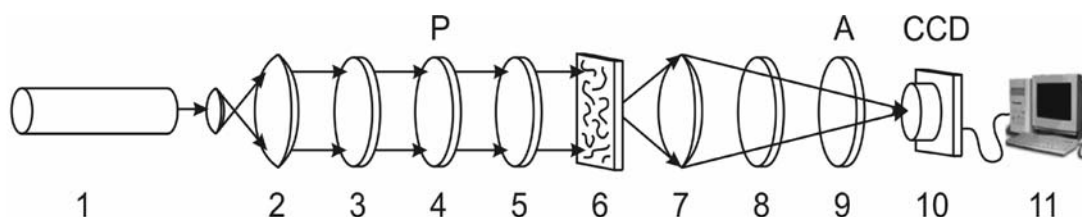


Рис. 2. Оптична схема лазерного поляриметра

1 – He-Ne лазер; 2 – коліратор; 3, 5, 8 – чвертьхвильові платівки; 4 – поляризатор, 6 – об'єкт дослідження; 7 – мікрооб'єктив; 9 – аналізатор; 10 – CCD камера; 11 – персональний комп'ютер

Методи дослідження включали загальноклінічні (опитування хворих, збір анамнезу, фізикальне обстеження), біохімічні (визначення рівня гемоглобіну, глюкози крові тощо), поляриметричні та статистичні.

Обговорення результатів дослідження

Інтенсивний розвиток векторного підходу до досліджень морфологічної структури та фізіологічного стану різноманітних біологічних тканин (БТ) [2, 8], створив фундамент для розвитку модельних уявлень про структуру будови БТ (рис. 1).

В основу моделювання побудови БТ покладено уявлення про те, що вона є двокомпонентною структурою: а) оптико-анізотропна компонента – матриця, яка сформована переважно фібрилярними компонентами тканини (протеїновими фібрилами, колагеновими волокнами, нитками фібрину тощо). Ця складова змінює основні параметри лазерного випромінювання в результаті його проходження через шар БТ; б) аморфна компонента – складові БТ, що не мають фібрилярної структури. Остання є оптично нейтральною, тобто такою, що не змінює основні характеристики променя лазерного випромінювання при його проходженні через БТ.

Така просторова структура БТ подібна до „заморожених” оптично-одновісних рідких кристалів.

На рис. 2 зображено оптичну схему лазерного поляриметра, що використовували для дослідження зразків еритроцитарної суспензії.

Опромінювання проводилось пучком ($\Phi = 10^4$ мкм) He-Ne лазера (1) з довжиною хвилі $\lambda = 0,6328$ мкм. За допомогою поляризаційного освітлювача (чвертьхвильові пластинки та поляризатор) формувалися різні стани поляризації освітлюючого пучка. Поляризаційні зображення шарів еритроцитарної суспензії (6) формувалися в площині світлочутливої площадки (800×600) CCD камери (10) за допомогою мікрооб'єктива (7), роздільна здатність якого була достатньою для проведення вимірів в діапазоні розмірів структурних лазерних зображень еритроцитарної суспензії людини (2-2000 мкм).

В основу дослідження оптичних властивостей шарів еритроцитарної суспензії було покладено фазовий аналіз поляризаційно візуалізованого лазерного зображення шляхом визначення координатного розподілу інтенсивності Фур'є-спектру шару еритроцитарної суспензії.

На рис. 3 наведений координатний та ймовірнісний розподіли інтенсивності Фур'є-спектру лазерного зображення шару еритроцитарної суспензії групи контролю.

З одержаних даних видно, що гістограма розподілу інтенсивності дослідженого Фур'є-спектру являє собою симетричний дзвоноподібний розподіл.

Інша картина спостерігається при дослідженні структури Фур'є-спектру лазерного зображення шару еритроцитарної суспензії пацієнтів з ІХС+ЦД (рис. 4).

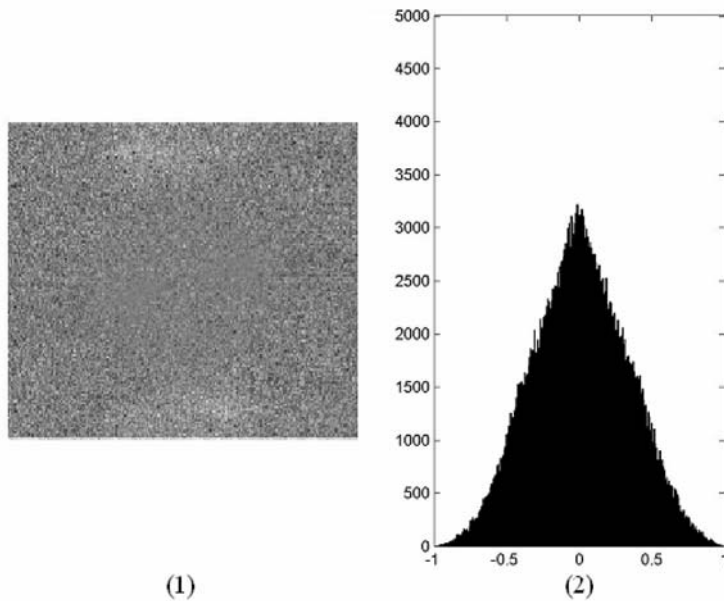


Рис. 3. Фур'є-фазометрія еритроцитарної суспензії групи контролю

Як видно, розподіл інтенсивності є координатно неоднорідним (фрагмент 1), а гістограма трансформується в асиметричну залежність (фрагмент 2). Виявлений факт свідчить про зростання анізотропної складової мембрани еритроцитів, що свідчить у першу чергу про зміни конформаційної структури білків еритроцитарної мембрани порівняно з контрольною групою. Припускаємо, що отримані нами дані свідчать про комплекс порушень патохімічних особливостей структури мембрани еритроцита в результаті хронічної гіперглікемії (активація пероксидного окиснення біополімерів та ліпідів, збільшення продукції активних форм кисню, глікозування білкових молекул, і, як результат, конформаційні та просторові зміни орієнтації протеїнових фібрил білків мембрани еритроцита, в т.ч. інтегральних) [1], що супроводжується погіршенням морфологічних особливостей мембрани червонокривця.

Ще більш виразно такі трансформації спостерігаються при дослідженні координатної та ймовірнісної структури розподілів інтенсивності Фур'є-спектрів лазерних зображень шарів еритроцитарної суспензії у двох інших групах досліджуваних (рис. 5, 6). Це, на нашу думку, слугує ознакою неоднорідності структури еритроцитарної мембрани за умов поліморбідності, що вивчалася.

Ступінь анізотропії залишався високим у хворих II та III груп. Ми розглядаємо це як прогресуюче погіршення морфо-функціональних властивостей еритроцитарної мембрани (в першу чергу за рахунок прогресування змін конформаційної структури її білкового компонента) за умов поліморбідності, що не може бути об'єктивізовано за допомогою традиційних методик, та, ймовірно, вимагає додаткових засобів корекції з метою оптимізації лікування даної категорії пацієнтів.

Кількісно такі трансформації Фур'є-спектрів, які зумовлені зміною оптичної анізотропії еритроцитів, ілюструють величини та діапазони зміни набору статистичних моментів M ; y ; A ; E , які об'єктивно характеризують структуру змін відповідних гістограм інтенсивності (табл.).

Усі статистичні моменти чутливі до змін морфо-функціональних властивостей еритроцитарної суспензії всіх груп обстежуваних порівняно із контрольною групою пацієнтів.

Найбільш чутливими виявилися зміни значень статистичних моментів 3-го і 4-го порядків: а) асиметрія A зростала від 8 до 70 разів; б) ексцес E зростав від 2,5 до 100 разів.

Таблиця

Статистичні моменти 1 – 4-го порядків координатних розподілів інтенсивності Фур'є-спектрів лазерних зображень шарів еритроцитарної суспензії

Статистичний момент	Контрольна група	ІХС+ЦД	ІХС+АС	ІХС+ЦД+АС
M середнє	0,07±0,009	0,11±0,014* p<0,05	0,105±0,012* p<0,05	0,19±0,032* p<0,002
y дисперсія	0,16±0,025	0,19±0,024	0,24±0,017* p<0,05	0,29±0,045* p<0,05
A асиметрія	0,08±0,001	0,63±0,074* p<0,001	0,84±0,12* p<0,001	5,43±0,73* p<0,001
E ексцес	0,12±0,016	0,29±0,035* p=0,001	1,79±0,29* p<0,001	15,83±1,98* p<0,001

Примітка. * - різниця вірогідна проти групи контролю

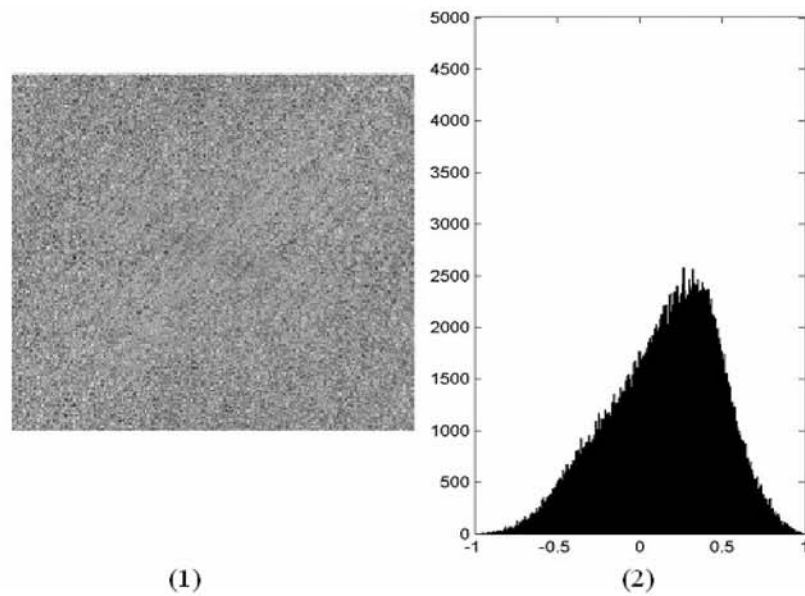


Рис. 4. Фур'є-фазометрія еритроцитарної суспензії хворих на ІХС+ЦД

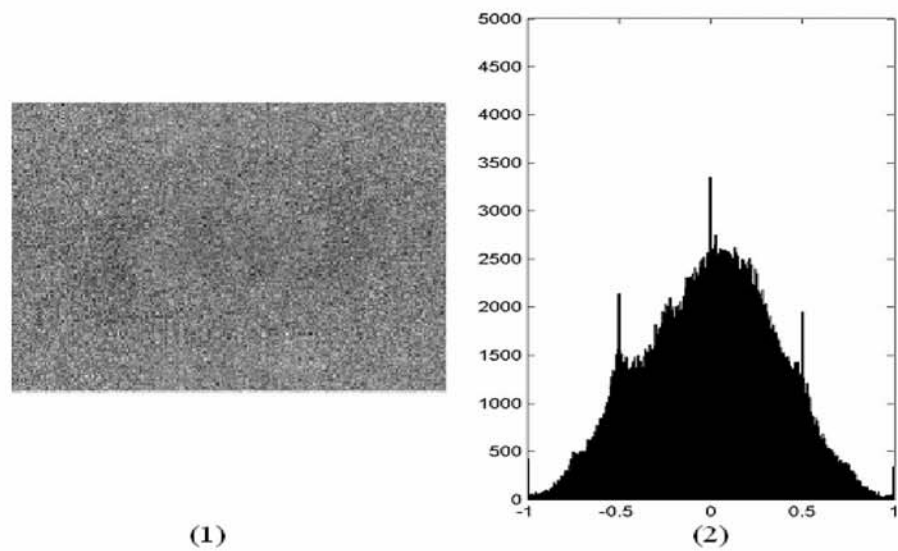


Рис. 5. Фур'є-фазометрія еритроцитарної суспензії хворих на ІХС+АС

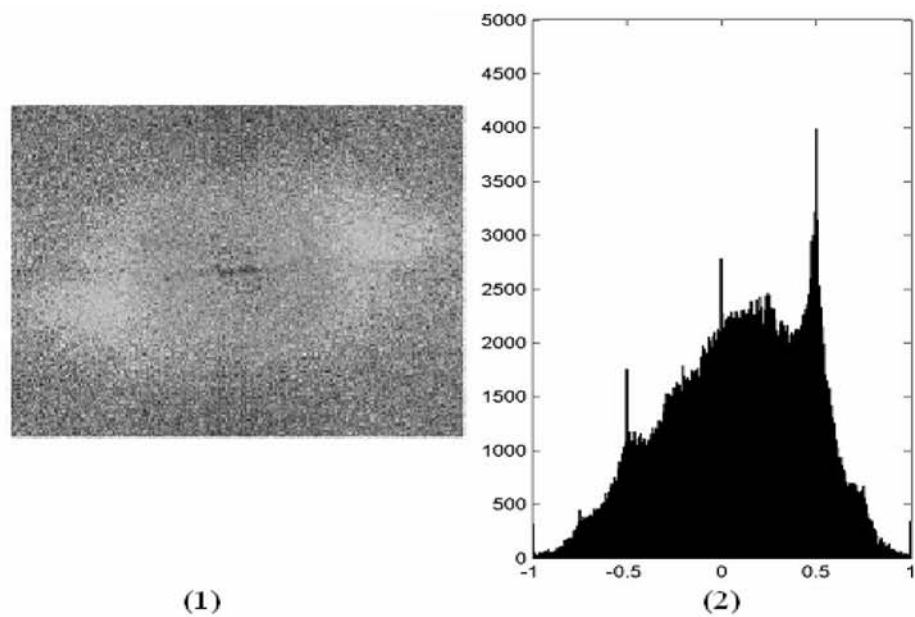


Рис. 6. Фур'є-фазометрія еритроцитарної суспензії хворих на ІХС+ЦД+АС

Висновки

1. Метод лазерної поляриметрії – Фур'є-фазометрія суспензії еритроцитів – є надзвичайно чутливим для оцінки морфо-функціонального стану мембран червоних клітин крові.

2. При поєднаному перебігу ІХС, ЦД та анемії має місце погіршення морфо-функціональних властивостей еритроцитів, що проявляється значним зростанням ступеня анізотропії еритроцитарної суспензії пацієнтів.

Перспективи подальших досліджень

Будуть продовжені дослідження морфо-функціональних властивостей тромбоцитів у хворих з аналогічною патологією з використанням методу лазерної поляриметрії.

Література. 1. Бондарь Т. П. Биофизические механизмы нарушения структурной организации биологических мембран эритроцитов при сахарном диабете / Т. П. Бондарь, Е. А. Мельченко, А. А. Солдатов // Клини. лаб. диагностика. – 2010. – № 10. – С. 4. 2. Лазерна поляризаційна морфологія біологічних тканин: статистичний і фрактальний підходи / О. Г. Ушенко, В. П. Пішак, О. В. Ангельський, Ю. О. Ушенко. – Чернівці: Колір-Друк, 2007. – 314 с. 3. Методы изучения деформируемости эритроцитов в эксперименте и клинике / А. В. Муравьев, И. А. Тихомирова, А. А. Муравьев, С. В. Булаева [и др.] // Клини. лабораторная диагностика. – 2010. – № 1. – С. 28-32. 4. Angelskaya A. O. Polarization speckle-reconstruction of biological tissues architectonics: polarization correlometry of birefringence architectonics: singular approach / A. O. Angelskaya, Yu. A. Ushenko, Ye. Ushenko, A. G. Ushenko [et al.] // Proc. SPIE. – 2007. – Vol. 6635. – P. 66350KP. 5. Angelsky O. V. Complex degree of mutual polarization of biological tissue coherent images for the diagnostics of their physiological state / O. V. Angelsky, A. G. Ushenko, Y. G. Ushenko // J. Biomed. Opt. – 2005. – Vol. 10, № 6 – P. 060502. 6. Craiem D. Fractional order models of viscoelasticity as an alternative in the analysis of red blood cell (RBC) membrane mechanics / D. Craiem, R. L. Magin // Physical biology. – 2010. – Vol. 7, № 1. – P. 13001. 7. Fedosov D. A. A multiscale red blood cell model with accurate mechanics, rheology, and dynamics / D. A. Fedosov, B. Caswell, G. E. Karniadakis // Biophysical Journal. – 2010. – Vol. 98, № 10. – P. 2215-2225. 8. Ushenko Yu. A. Statistical structure of polarization-inhomogeneous images of biotissues with different morphological structures / Yu. A. Ushenko // Ukr. J. Phys. Opt. – 2005. – Vol. 6, № 2. – P. 63-70.

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА С СОПУТСТВУЮЩИМИ АНЕМИЕЙ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА: ВОЗМОЖНОСТИ ЛАЗЕРНОЙ ПОЛЯРИМЕТРИИ

М. Ю. Коломоєц, Н. Д. Павлюкович, О. Г. Ушенко, В. М. Ходоровський, І. В. Трефаненко

Резюме. В статье освещены современные возможности использования методов лазерной поляриметрии эритроцитарной суспензии с целью объективизации измененной морфо-функциональных особенностей эритроцитов человека в условиях сопутствующего течения ишемической болезни сердца, сахарного диабета 2-го типа и анемического синдрома.

Ключевые слова: эритроцит, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, анемия, фурье-фазометрия.

ERYTHROCYTES FUNCTIONAL PECULIARITIES IN PATIENTS WITH ISCHEMIC HEART DISEASE WITH CONCOMITANT ANEMIA AND DIABETES MELLITUS 2-ND TYPE: POSSIBILITIES OF LASER POLARIMETRY

M. Yu. Kolomoiets, N. D. Pavlyukovich, O. G. Ushenko**, V. M. Khodorovskiy, I. V. Trefanenko*

Abstract. Modern possibilities of applying of methods of laser polarimetry of erythrocyte suspension for finding out changes of morpho-functional peculiarities of human erythrocytes in patients with ischemic heart disease complicated by diabetes mellitus of 2-nd type and anemic syndrome are discussed in the article.

Key words: erythrocyte, ischemic heart disease, diabetes mellitus, anemia, Furrye-phasometry.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi),

***State Scientific Institution «Theoretical and practical centre of preventive and clinical medicine» (Kyiv)**

**** - Chernivtsi National University named after Yu. Fedkovych (Chernivtsi)**

Clin. and experim. pathol. - 2011. - Vol. 10, №2 (36). - P.47-51.

Надійшла до редакції 24.05.2011

Рецензент – проф. В. К. Тацук

© М. Ю. Коломоєць, Н. Д. Павлюкович, О. Г. Ушенко, В. М. Ходоровський, І. В. Трефаненко, 2011