

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ / ORIGINAL ARTICLE



УДК 616.37-002. 4:616.155.1.-076.5

doi.org/10.5922/2223-2427-2024-9-4-3

ПРИМЕНЕНИЕ АТОМНО-СИЛОВОЙ МИКРОСКОПИИ ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ СРЕДНЕЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ

Г. Н. Гуликян¹, Р. А. Пахомова²✉¹ Клиническая больница «РЖД-Медицина»,
660058, Россия, Красноярск, ул. Ломоносова, 47² Университет «Росбиотех»,
125080, Россия, Москва, Волокамское шоссе, 11

Поступила в редакцию: 07.08.2024 г.

Принята в печать: 22.09.2024 г.

Для цитирования: Гуликян Г. Н., Пахомова Р. А. Применение атомно-силовой микроскопии для прогнозирования осложнений при остром панкреатите средней степени тяжести. *Хирургическая практика*. 2024;9(4):33–41. <https://doi.org/10.5922/2223-2427-2024-9-4-3>

Введение. Вопросы лечения острого панкреатита продолжают находиться в центре внимания мирового хирургического сообщества. В качестве одного из методов диагностики предлагается оценка состояния эритроцитов периферической крови.

Цель исследования — определить изменения эритроцитарной мембраны, соответствующие острому панкреатиту средней тяжести течения.

Материал и методы. Для проведения проспективного мультицентрованного исследования произведен забор венозной крови у 48 человек. В контрольную группу вошли 15 проб крови, забранные у практически здоровых людей. Во всех пробах проводилось исследование мембраны эритроцитов методом атомно-силовой микроскопии (АСМ).

Результаты исследования. Пробы 33 пациентов с установленным диагнозом острого панкреатита средней тяжести по итогам проведенной атомно-силовой микроскопии были разделены на 2 группы: 1-я группа из 16 человек имела минимальные изменения эритроцита, у 2-й группы из 17 человек изменения были более выражены. При атомно-силовой микроскопии проводилось сравнение эритроцитов из контрольной группы с эритроцитами двух групп пациентов по длине, ширине, высоте площади и объему эритроцита и, самое главное, по наличию язвенных поражений мембраны.

Обсуждение. По итогам проведенной атомно-силовой микроскопии обнаружены явные изменения состояния самого эритроцита и его мембраны. При этом изменения были более выражены у пациентов 2-й группы.

Заключение. Проведение атомно-силовой микроскопии эритроцитов позволяет составить представление о состоянии клеток поджелудочной железы при остром панкреатите средней

степени тяжести. Внедрение АСМ эритроцитов в практику в качестве диагностического теста позволит прогнозировать течение заболевания, своевременно принимать меры и менять тактику ведения пациента.

Ключевые слова: эритроцит, сканирующая зондовая микроскопия эритроцита, деформация мембраны, осложнения острого панкреатита

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

UDK 616.37-002. 4:616.155.1.-076.5

doi.org/10.5922/2223-2427-2024-9-4-3

THE USE OF ATOMIC FORCE MICROSCOPY TO PREDICT COMPLICATIONS IN MODERATE ACUTE PANCREATITIS

G. N. Gulikyan¹, R. A. Pakhomova²✉

¹ RZD-Medicine Clinical Hospital,
47 Lomonosov St, Krasnoyarsk, 660058, Russia

² BIOTECH University,
11 Volokolamskoe shosse, Moscow, 125080, Russia

Received 07 August 2024

Accepted 22 September 2024

To cite this article: Gulikyan GN, Pakhomova RA. The use of atomic force microscopy to predict complications in moderate acute pancreatitis. *Surgical practice [Russia]*. 2024;9(4):33–41. <https://doi.org/10.5922/2223-2427-2024-9-4-3>

Introduction. In response to the ongoing focus of the global surgical community on the challenges of acute pancreatitis, the assessment of peripheral blood erythrocytes is proposed as a diagnostic method.

Aim. This study aims to identify changes in the erythrocyte membrane associated with moderate-severity acute pancreatitis.

Material and methods. To conduct a prospective multicenter study, venous blood was collected from 48 people. The control group included 15 blood samples taken from clinically healthy individuals. In all samples, the erythrocyte membrane was examined by atomic force microscopy (AFM).

Results of the study. Based on AFM results, samples from 33 patients with a diagnosis of moderate-severity acute pancreatitis were divided into two groups: group 1 of 16 individuals with minimal changes in erythrocytes and group 2 of 17 individuals with more pronounced changes. AFM was used to compare erythrocytes from the control group with erythrocytes from the two patient groups with regard to length, width, height, area, and volume of the erythrocyte and, most importantly, the presence of ulcerative lesions of the membrane.

Discussion. The results of AFM revealed obvious changes in the state of the erythrocyte and its membrane, with more pronounced alterations observed in group 2 patients.

Conclusion. Erythrocyte AFM provides insight into the condition of pancreatic cells in acute pancreatitis of moderate severity. The introduction of erythrocyte AFM as a diagnostic test will enable the prediction of disease progression, allowing for timely intervention and adjustments to patient management strategies.

Keywords: erythrocyte, scanning probe microscopy of erythrocyte, membrane deformation, complications of acute pancreatitis

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Введение

Вопросы лечения острого панкреатита продолжают находиться в центре внимания мирового хирургического сообщества [1]. Причинами столь пристального внимания является то, что панкреатит прочно занимает пятое место в структуре острой хирургической абдоминальной патологии. Летальность при данном заболевании в зависимости от тяжести течения может достигать 98 %. Если установление диагноза острого панкреатита на современном этапе не представляет трудностей, то определение степени тяжести и прогноз течения заболевания не так очевидны [2; 3].

Все современные методы обследования пациентов (включая компьютерную томографию и магнитно-ядерный резонанс) не дают возможности достоверно определить степень тяжести острого панкреатита. Вопрос о прогнозе некротических и гнойно-септических осложнений до сих пор остается нерешенным [4–6]. Вследствие этого в тематической литературе идет активный поиск новых возможностей диагностики.

В качестве одного из методов диагностики предлагается оценка состояния эритроцитов периферической крови [7]. Мембрана эритроцитов подвержена изменениям при различных патологиях, возникающих в макроорганизме, в том числе и при панкреатите. Изменения эритроцитов аналогичны изменениям в клетках других органов [8]. При этом кровь, а значит, и эритроцит — одна из наиболее доступных тканей человека.

Световая микроскопия не дает полного представления о строении эритроцита. Одним из методов, позволяющих судить об изменении формы эритроцита и состоянии его мембраны и цитоплазмы, является электронная микроскопия. Однако и эта методика не позволяет определить всю глубину и степень повреждения эритроцитарной мембраны [9].

Для решения данных вопросов применяется атомно-силовая микроскопия (АСМ), при которой возможно определить изменение размеров эритроцита, деформацию мембраны, обнаружить трещины или язвы на мембране, измерить их ширину и глубину [10; 11]. АСМ уже успешно применяется в диагностике большого количества заболеваний [12].

Цель данного исследования — определить изменения эритроцитарной мембраны, соответствующие острому панкреатиту средней тяжести течения.

Материал и методы

Для проведения проспективного мультицентрованного исследования произведен забор венозной крови у 48 человек. В контрольную группу вошли 15 проб крови, забранные у практически здоровых людей. Пробы 33 пациентов с установленным диагнозом острого панкреатита средней тяжести по итогам проведенной атомно-силовой микроскопии были разделены на 2 группы: 1-я группа из 16 человек имела минимальные изменения эритроцита, у 2-й группы из 17 человек изменения были более выражены. При этом клинические проявления и данные инструментальных методов исследований (УЗИ органов брюшной полости, КТ органов брюшной полости) не имели существенных отличий.

Результаты исследования

При атомно-силовой микроскопии проводилось сравнение эритроцитов из контрольной группы с эритроцитами двух групп пациентов по длине, ширине, высоте площади и объему эритроцита и, самое главное, по наличию язвенных поражений мембраны [табл. 1, 2].

Таблица 1. Сравнение линейных размеров эритроцитов, полученных при АСМ

Table 1. Comparison of linear sizes of erythrocytes obtained by AFM

Группа	Количество исследований	Длина, мкм	Ширина, мкм	Высота макс., нм	Высота мин., нм	Впадина эритроцита, мкм
Контроль	15	5,72	5,58	346,7	162,4	185,9
1-я	16	5,74	5,48	349,9	160,2	181,4
2-я	17	5,78	5,39	352,7	157,2	178,3

Как видно из таблицы 1, отмечаются различия по длине и ширине эритроцита по сравнению с контрольной группой. При этом эритроцит стремится к удлинению при уменьшении ширины. Прослеживается явная тенденция к увеличению максимально и уменьшению минимальной высот эритроцита, и как следствие, уменьшение глубины впадины. Таким образом уменьшается двояковыпуклость клетки с тенденцией к сфероцитозу.

Таблица 2. Сравнение площади, объема и поверхности мембраны эритроцитов, полученных при АСМ

Table 2. Comparison of the area, volume and surface of the erythrocyte membrane obtained by AFM

Группа	Количество	Площадь, мкм ²	Объем, мкм ³	Количество эрозий, на 4 × 4 нм	Длина эрозии, мкм	Ширина эрозии, мкм	Глубина эрозии, мкм
Контроль	15	43,9	8,1	—	—	—	—
1-я группа	16	44,2	9,2	6	0,26	0,27	0,34
2-я	17	45,3	9,3	18	0,41	0,34	0,48

При сравнении площади и объема с контрольной группой отмечено увеличение обоих показателей. При исследовании состояния мембраны во 2-й группе выявлено в 3 раза больше эрозий по сравнению с 1-й группой. Ширина и глубина эрозий в 1-й и 2-й группах значительно разнилась, причем значения были больше во 2-й группе. В контрольной группе нарушений целостности мембраны не обнаружено.

Изменение формы и целостности мембраны можно определить визуально (рис.).

На снимках, представленных на рисунке, отчетливо видно изменение формы эритроцита и постепенное уменьшение эритроцитарной впадины, вплоть до практического исчезновения во 2-й группе. Также визуализируется ухудшение состояния мембраны по сравнению с группой контроля.

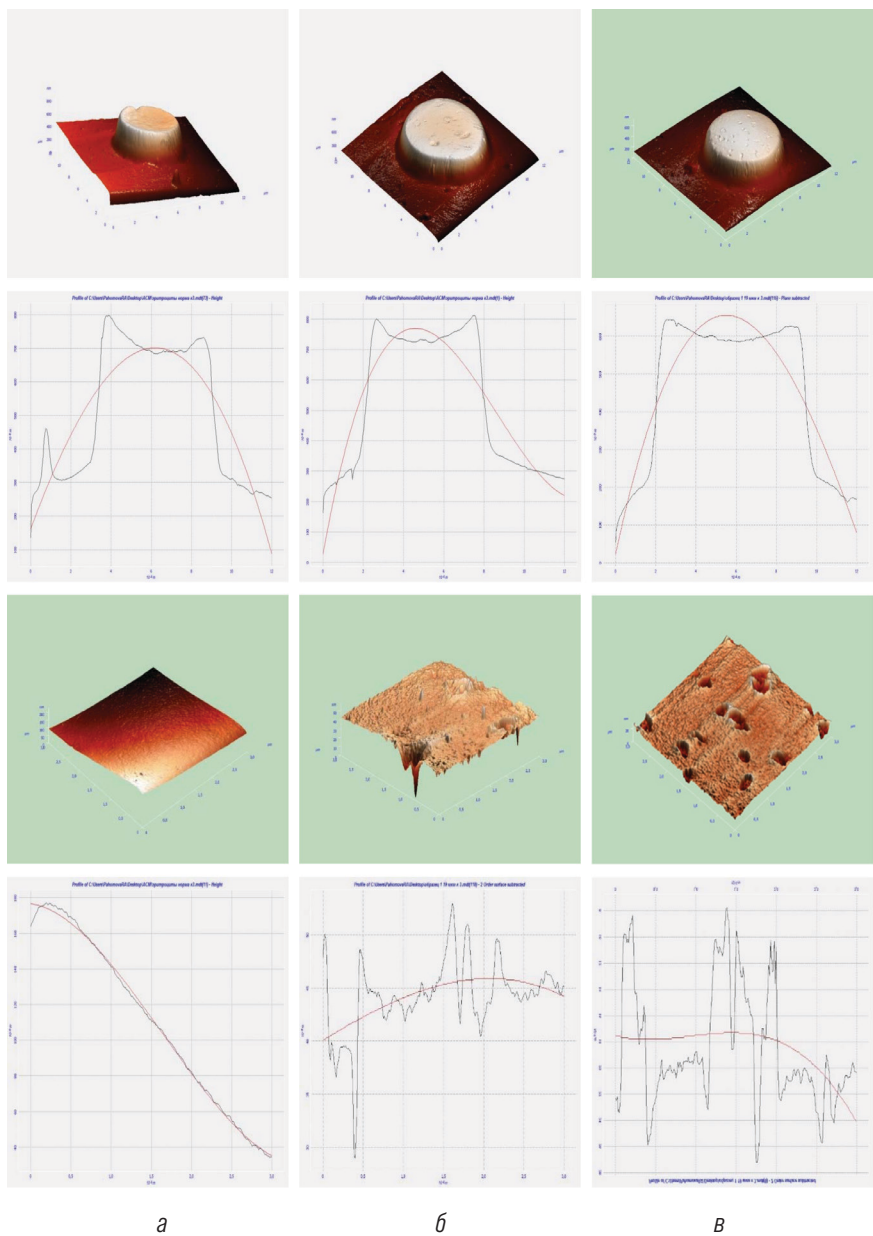


Рис. Сравнение формы и мембраны эритроцита:
а — группа контроля; б — 1-я группа; в — 2-я группа

Fig. Comparison of the shape and membrane of an erythrocyte:
a — control group; б — Group 1; в — Group 2

Для того чтобы провести параллель между состоянием мембраны эритроцита при поступлении пациентов в стационар при завершении лечения, были прослежены ближайшие результаты [табл. 3].

Таблица 3. Результаты лечения пациентов с острым панкреатитом средней степени тяжести
Table 3. Results of treatment of patients with moderate acute pancreatitis

Группа	Количество	Состояние мембраны эритроцита		Выздоровление	Панкреонекроз	Смерть
		Незначительное повреждение	Сильное повреждение			
1-я	16	16	—	15	1	—
2-я	17	9	8	11	6	2
Всего	33	23	8	26	7	2

В 1-й группе у пациентов при проведении АСМ эритроцитов не было выявлено выраженных изменений эритроцитарной мембраны. В ходе стационарного лечения тем не менее у одного пациента на 2-е сутки пребывания в отделении развился панкреонекроз, несмотря на проводимое лечение. Во 2-й группе выраженные изменения мембраны отмечены у 8 пациентов. В последующие несколько суток у 7 пациентов развился панкреонекроз. Двое пациентов из этой группы умерли. Таким образом, летальность в первой группе составила 0 %, во второй — 11,8 %.

Обсуждение

По итогам проведенной атомно-силовой микроскопии обнаружены явные изменения состояния самого эритроцита и его мембраны. При этом изменения были более выражены у пациентов 2-й группы. Учитывая, что изменения эритроцита идентичны изменениям состояния других клеток организма, в том числе и в поджелудочной железе, можно предположить, что пациенты 2-й группы с большими изменениями клеток имеют больше угроз развития панкреонекроза при одинаковых с 1-й группой клинической картине и данных дополнительных методов исследования. То есть рутинное обследование при остром панкреатите средней тяжести не позволяет спрогнозировать утяжеление состояния пациента. При дальнейшем наблюдении в стационаре выявлено, что лишь у одного пациента с незначительными изменениями мембраны эритроцита развился панкреонекроз. Во 2-й группе с выраженными изменениями мембраны панкреонекроз возник у 7 (35 %) пациентов, причем у двоих заболевание закончилось летальным исходом. Возможно, мониторинг состояния мембраны позволил бы заподозрить утяжеление состояния и своевременно скорректировать лечение. Полученные результаты атомно-силовой микроскопии позволяют более настороженно относиться к пациентам с выраженными изменениями эритроцитарной мембраны и своевременно решать вопрос о добавлении к проводимой терапии мембранопротекторов или проведении оперативного лечения.

Таким образом, интерполируя данные АСМ эритроцитов на клетки поджелудочной железы, можно без проведения биопсии pancreas косвенно судить о состоянии панкреоцитов.

Заключение

Проведение атомно-силовой микроскопии эритроцитов позволяет составить представление о состоянии клеток поджелудочной железы при остром панкреатите средней степени тяжести. Изменение формы и объема эритроцита и, самое главное, нарушение целостности эритроцитарной мембраны свидетельствуют о повреждении панкреоцитов и опасности развития панкреонекроза и гнойно-септических осложнений.

Внедрение АСМ эритроцитов в практику в качестве диагностического теста позволит прогнозировать течение заболевания, своевременно принимать меры и менять тактику ведения пациента.

Список литературы / References

1. Бухвалов А. Г., Грекова Н. М., Лебедева Ю. В., Бордуновский В. Н., Шишменцев Н. Б., Васильев В. С. Острый панкреатит: современные концепции хирургического лечения. *Новости хирургии*. 2020;28(2):197.

[Bukhvalov AG, Grekova NM, Lebedeva YuV, Bordunovsky VN, Shishmintseva NB, Vasiliev VS. Acute pancreatitis: modern concepts of surgical treatment. *Surgery news*. 2020;28(2):197 (in Russ.). <https://doi.org/10.18484/2305-0047.2020.2.197>]

2. Kwong WT, Ondrejková A, Vege SS. Predictors and outcomes of moderately severe acute pancreatitis — Evidence to reclassify. *Pancreatology*. 2016. Nov-Dec;16(6):940–945. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2016.08.001>

3. Капралов С. В., Потапов Д. Ю., Масляков В. В., Амиров Э. В., Наматулин Р. С. Возможности прогнозирования степени тяжести острого панкреатита в ранние сроки. *Вестник НМХЦ им. Н. И. Пирогова*. 2023;18(2):41–45.

[Kaprlov SV, Potapov DYU, Maslyakov VV, Amirov EV, Rakhmatullin RS. The possibilities of predicting the severity of acute pancreatitis in the early stages. *Bulletin of Pirogov national medical & surgical center*. 2023;18(2):41–45 (in Russ.). https://doi.org/10.25881/20728255_2023_18_2_41]

4. Халадова Л. М., Зангионов Г. Э., Карсанов А. М. Показатели заболеваемости и смертности при остром панкреатите как индикатор состояния медицинской помощи на региональном уровне. *Научный лидер*. 2023;25(123):26–28.

[Khaladova LM, Zangionov GE, Karsanov AM. Morbidity and mortality rates in acute pancreatitis as an indicator of the state of medical care at the regional level. *Scientific leader*. 2023;25(123):26–28 (in Russ.).]

5. Галлямов Э. А., Арапов М. А., Бусырев Ю. Б., Галлямов Э. Э., Какоткин В. В., Аллахвердиева А. Р. Сравнительная оценка минимально инвазивных методик лечения инфицированного панкреонекроза. *Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова*. 2020;(3):22–28.

[Galliamov ÉA, Agarov MA, Busyrev YuB, Galliamov EE, Kakotkin VV, Allahverdieva AR. Comparison of minimal invasive technologies for treatment of infected pancreatic necrosis. *Pirogov Russian Journal of Surgery*. 2020;(3):22–28. (in Russ.). <https://doi.org/10.17116/hirurgia202003122>]

6. Паршин Д. С., Михайличенко В. Ю., Абдуллаев А. Я. Острый панкреатит: новые факты и подводные камни (обзор литературы). *Таврический медико-биологический вестник*. 2023;26(3):131–140.

[Parshin DS, Mikhailichenko VYu, Abdullaev AY. Acute pancreatitis: new facts and pitfalls (literature review). *Tauride Medical and Biological Bulletin*. 2023;26(3):131–140 (in Russ.).]

7. Платонова К. Н., Стручков В. Н., Семенова М. Н., Коркина А. П., Мамаева С. Н., Антонов С. Р., Мунхалова Я. А., Кононова И. В. Исследование эритроцитов человека методом сканирующей электронной микроскопии: условие проведения эксперимента. *Молодой ученый*. 2020;23(313):27–33.

[Platonova KN, Struchkov VN, Semenova MN, Korkina AP, Mamaeva SN, Antonov SR, Munkhalova YaA, Kononova IV. Examination of human erythrocytes by scanning electron microscopy: experimental condition. *A young scientist*. 2020;23(313):27–33 (in Russ.).]

8. Башук В. В., Павлова Т. В., Прощаев К. И., Чаплыгина М. А., Селиванова А. В., Сырцева И. С. Морфологические и морфофункциональные свойства эритроцитов в группе практически здоровых людей. *Фундаментальные исследования*. 2014;4-2:242–245.

[Bashuk VV, Pavlova TV, Proshaev KI, Chaplygina MA, Selivanova AV, Syrtseva IS. Morphological and morphofunctional properties of erythrocytes in a group of practically healthy people. *Basic research*. 2014;4-2:242–245 (in Russ.).]

9. Мороз В. В., Черныш А. М., Козлова Е. К., Кирсанова А. К., Новодержкина И. С., Александрин В. В., Борщеговская П. Ю., Близняк У. А., Рысаева Р. М. Атомная силовая микроскопия структуры мембран эритроцитов при острой кровопотере и реинфузии. *Общая реаниматология*. 2009;5(5):5–9.

[Moroz VV, Chernysh AM, Kozlova EK, Kirsanova AK, Novoderzhkina IS, Alexandrin VV, Borshchegovskaya PYu, Bliznyuk UA, Rysaeva RM. Atomic force microscopy of the structure of erythrocyte membranes in acute blood loss and reinfusion. *General reanimatology*. 2009;5(5):5–9 (in Russ.).]

10. Шейн А. В., Карпукhin В. С. Исследование типов поверхности при помощи атомно-силового микроскопа. *Молодой ученый*. 2016;13(117):274–278.

[Shein AV, Karpukhin VS. Investigation of surface types using an atomic force microscope. *A young scientist*. 2016;13(117):274–278 (in Russ.).]

11. Timashev PS, Koroleva AV, Kononov NA, Kotova SL, Solovieva AB. Atomic Force Microscopy of Tissue Sections Is a Useful Complementary Tool in Biomedical Morphological Studies. *Modern Technologies in Medicine*. 2018;10(1):70–80. <https://doi.org/10.17691/stm2018.10.1.09>

12. Пахомова Р. А., Гуликян Г. Н. Атомно-силовая микроскопия эритроцитов больных панкреонекрозом. *Сибирское медицинское обозрение*. 2022;2:49–55.

[Pakhomova RA, Gulikyan GN. Atomic force microscopy of erythrocytes of patients with pancreatic necrosis. *Siberian medical review*. 2022;2:49–55 (in Russ.). <https://doi.org/10.20333/25000136-2022-2-49-55>]

Об авторах

Гарен Нораирович Гуликян, кандидат медицинских наук, врач-хирург, Клиническая больница «РЖД-Медицина», Россия.

E-mail: gkns_100@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-1549-0319>

Регина Александровна Пахомова, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой пластической хирургии, университет «Росбиотех», Россия.

E-mail: PRA5555@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3681-4685>

Для корреспонденции:

Регина Александровна Пахомова, университет «Росбиотех», Россия, 125080, Москва, Волоколамское шоссе, 11.

E-mail: PRA5555@mail.ru

The authors

Garen N. Gulikyan, Surgeon, RZD-Medicine Clinical Hospital, Russia.

E-mail: gkns_100@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-1549-0319>

Prof. Regina A. Pakhomova, head of the Department of Plastic Surgery, BIOTECH University, Russia.

E-mail: PRA5555@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3681-4685>

For correspondence:

Regina A. Pakhomova, BIOTECH University, 11 Volokolamskoe shosse, Moscow, 125080, Russia.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования: Р. А. Пахомова

Сбор и обработка материалов: Г. Н. Гуликян, Р. А. Пахомова

Статистическая обработка: Г. Н. Гуликян, Р. А. Пахомова

Написание текста: Г. Н. Гуликян

Редактирование: Р. А. Пахомова

Authors contribution:

Research concept and design: Regina A. Pakhomova

Collection and processing of materials: Garen N. Gulikyan, Regina A. Pakhomova

Statistical processing: Garen N. Gulikyan, Regina A. Pakhomova

Text preparation: Garen N. Gulikyan

Editing: Regina A. Pakhomova

