

С.П. Новиков¹
Н.С. Бондаренко²
А.В. Василишин¹
Л.А. Кириллова¹
К.Б. Фролов²
И.В. Твердохлеб²

¹ КУ «Днепропетровская городская многопрофильная клиническая больница №4 Днепропетровского областного совета»

² ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

Надійшла: 12.02.2019

Прийнята: 05.03.2019

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.1.38-46>

УДК 616-089.5-036.17

РОЛЬ СТИМУЛЯЦИИ ЭРИТРОПОЭЗА В ПРЕДОПЕРАЦИОННОЙ ПОДГОТОВКЕ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ С КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ

Novikov S.P. ✉, Bondarenko N.S. , Vasilishin A.V., Kirillova L.A., Frolov K.B., Tverdokhlebo I.V.  The role of erythropoiesis stimulation in preoperative preparation in the surgical treatment of patients with colorectal cancer.

CI "Dnipro city multi-clinical hospital № 4 of the Dnipro regional council", SI "Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine", Dnipro, Ukraine

ABSTRACT. Background. Anemic syndrome, which accompanies the development of pathology in patients with colorectal cancer, can cause serious early postoperative complications. The question of how preoperative preparation activities influence the state of the intestinal structures and the clinical situation in general is relevant. Of particular importance in this situation is the correction of anemic syndrome before surgery, using hematopoietic stimulants. **Objective.** The purpose of the study is to analyze the dynamics of erythropoiesis and changes in tissue and cell ultrastructure in intraoperative colon biopsy specimens after stimulation of erythropoiesis in preoperative preparation in the surgical treatment of patients with colorectal cancer. **Methods.** The study of red bone marrow and the wall of the large intestine using transmission electron microscopy. **Results.** Most patients with colorectal cancer are characterized by the development of signs of ineffective erythropoiesis with a moderate slowdown in the differentiation of erythroblasts and a delay in the release of mature erythrocytes into the systemic circulation. Stimulation of erythropoiesis with the help of epoetin leads to an increase in the functional activity of the central macrophages of the erythropoietic islets of the red bone marrow and the enhancement of their intercellular association with maturing erythroid cells. This is accompanied by the formation of a large number of full-fledged erythrocytes, an increase in the numerical density of cells of the erythroid series and the normalization of their ultrastructure. **Conclusion.** Stimulation of erythropoiesis with the help of epoetin in the preoperative period causes the inhibition of endothelial dysfunction due to the restriction of dystrophic and destructive changes in endothelial cell organelles, stabilization of their membranes, prevention of arteriole spasm, erythrocyte stasis and erythrocyte phenomena. As a result, the phenomena of infiltration, perivascular and interstitial edema in the composition of the membranes of the intestinal wall are much less pronounced than in the group of patients without preoperative activation of erythropoiesis.


Key words: colorectal cancer, erythropoiesis stimulation, red bone marrow, large intestine, transmission electron microscopy.

Citation:

Novikov SP, Bondarenko NS, Vasilishin AV, Kirillova LA, Frolov KB, Tverdokhlebo IV. [The role of erythropoiesis stimulation in preoperative preparation in the surgical treatment of patients with colorectal cancer]. *Morphologia*. 2019;13(1):38-46. Russian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.1.38-46>

 Bondarenko N.S. 0000-0003-3933-7535

 Tverdokhlebo I.V. 0000-0002-8672-3773

✉ nova73@ua.fm

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Введение

По данным ВОЗ, в мире ежегодно регистрируется более 500 тыс. случаев колоректального рака. В структуре онкосмертности населения

Украины колоректальный рак занимает 4-е место (6,3%) среди мужского населения и 2-е место среди женщин (8,7%). Ведущим методом в лечении рака прямой кишки до настоящего времени

остается хирургический. Данные вмешательства относятся к группе с высокой степенью травматичности, т.к. требуют проведения вмешательств, сопровождающихся лимфодиссекцией, формированием трансплантатов для проведения сфинктеросохраняющих операций. В последнее время сместились взгляды в сторону радикализма в отношении операбельности пациентов со злокачественными новообразованиями органов брюшной полости на поздних стадиях, увеличилось количество расширяющих радикальных вмешательств, затрагивающих ряд стрессогенных органов и тканей. Чем массивнее повреждение тканей, тем более выражены сопровождающая его воспалительная реакция, степень кровопотери и интенсивность послеоперационного болевого синдрома [1-4].

Кроме того, одним из важнейших факторов, который необходимо учитывать у больных с колоректальным раком, является анемический синдром, который не только сопровождает развитие патологии у данных больных, но и может стать причиной серьезных ранних послеоперационных осложнений. Улучшение отдаленных результатов лечения рака прямой кишки может быть достигнуто за счет улучшения диагностики этого заболевания с одной стороны, и разработки методов адекватной предоперационной подготовки – с другой стороны. В связи с этим становится актуальным вопрос о том, как влияют мероприятия предоперационной подготовки на состояние структур кишечника и клиническую ситуацию в целом [5]. Особое значение в этой ситуации приобретает коррекция анемического синдрома еще до проведения оперативного вмешательства с помощью стимуляторов гемопоэза.

Эритропоэтин играет роль фактора, стимулирующего митоз эритроидных клеток-предшественниц, и гормона, стимулирующего эритропоэз. Эпоэтин-альфа, который производится по генноинженерной технологии, идентичен эритропоэтину человека. После введения эпоэтина-альфа количество эритроцитов, ретикулоцитов, уровень гемоглобина и скорость поглощения железа нарастают. В целом, с помощью культур клеток человеческого костного мозга и при использовании других современных технологий было доказано, что эпоэтин-альфа избирательно стимулирует эритропоэз [6-8].

При этом в некоторых контролируемых исследованиях эритропоэтина не показали улучшения общей выживаемости или снижение риска прогрессирования опухоли у пациентов с анемией, ассоциированной с раком. Важен вопрос: в каких клинических ситуациях стоит отдать предпочтение переливанию крови для лечения анемии у пациентов, больных раком, в послеоперационном периоде. Решение о применении рекомбинантного эритропоэтина должно основываться на оценке пользы-риска с участием конкретного пациента, который

должен также принять во внимание специфический клинический контекст. Факторы, которые необходимо учесть при такой оценке, должны включать тип опухоли и ее стадию, степень анемии, ожидаемую продолжительность жизни и желание самого пациента [11, 12].

Учитывая, что прямое ультраструктурное исследование толстого кишечника и клеток красного костного мозга является наиболее точным инструментом для оценки их патоморфологических изменений [4, 5], представляется актуальным электронномикроскопическое изучение интраоперационных биоптатов участков толстой кишки, прилежащих к неопластически пораженной колоректальной зоне, а также эритроидных костномозговых клеток в условиях предоперационной подготовки при радикальных вмешательствах по поводу колоректального рака.

Цель

Анализ динамики эритропоэза и изменений тканевой и клеточной ультраструктуры в интраоперационных биоптатах толстой кишки после стимуляции эритропоэза в предоперационной подготовке при хирургическом лечении больных с колоректальным раком.

Материалы и методы

Исследовано 20 пациентов, которым показано радикальное оперативное вмешательство по поводу колоректального рака. Пациенты были разделены на две клинические группы. В 1-й группе при проведении операции проводилась комбинированная анестезия с использованием севофлурана и эпидуральной аналгезии. Технически пункцию эпидурального пространства проводили на уровне L₁ - L₂ с последующей катетеризацией эпидурального пространства в краниальном направлении. Индукция: фентанил 5,0 мкг/кг, пропофол – 1,5-2,0 мг/кг, миоплегия - дитилин 2 мг/кг. Поддержание анестезии проводили с помощью наркозной станции Leon («HEINEN», Austria), где создавали МАК севофлурана 0,5-0,6 в потоке кислородно-воздушной смеси 0,8-1,0 л/мин в комбинации с болюсным введением фентанила 0,2 мг/ч. Эпидурально вводился 0,25% раствор бупивакаина в объеме 12-15 мл с содержанием 0,05 мг фентанила. За 30 мин до окончания оперативного вмешательства в/в вводились 1000 мг парацетамола Во 2-й группе за 5 суток до операции пациентам подкожно вводили стимулятор эритропоэза – эритропоэтин человека рекомбинантный Эмавейл («Юрия-Фарм», Украина) в дозе 10000 ед. В исследование не включали пациентов при наличии тяжелых коронарных, периферийно-артериальных, каротидных или церебрально-сосудистых заболеваний, а также после инфаркта миокарда или инсульта.

Для электронномикроскопического исследования во время радикального оперативного вмешательства из участков макроскопически неизменной толстой кишки, прилежащих к неопластически

пораженной колоректальной зоне, извлекались биоптаты размером 1 мм³. Для анализа эритроидных клеток выполняли аспирацию красного костного мозга с помощью стандартной стеральной пункции. Образцы в течение двух часов фиксировали при +2°C в 3%-ном растворе глутарового альдегида, приготовленного на 0,2М фосфатном буфере (рН 7,4). Материал переносили для постфиксации в 1%-ный забуференный (рН 7,4) раствор тетраоксида осмия ("SPI", США) на один час. Обезвоживали образцы с помощью пропиленоксида в растворах возрастающей концентрации. Для изготовления эпоксидных блоков использовали композицию эпон-аралдит. Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме УМТП-6М ("SELM", Украина). Исследования проводились с помощью трансмиссионного электронного микроскопа ПЭМ-100-01 ("SELM", Украина) при ускоряющем напряжении 65-90 кВ и первичных увеличениях от 2000 до 40000. В целом, электронномикроскопическое исследование проводили по стандартной схеме [13-15].

Исследования были проведены с учетом принципов медицинской и биологической этики [16].

Результаты и их обсуждение

У больных с колоректальным раком ультраструктура клеток эритропоэтического ряда имела ряд морфологических особенностей. В частности, проэритробласты в составе стерального пунктата содержали крупное округлое ядро с хроматином преимущественно в деконденсированном состоянии. Ядрышкообразующие районы нуклеоплазмы были гетероморфными, в каждом из них преобладали фибриллярные центры, гранулярные компоненты встречались редко. В узком ободке цитоплазмы наблюдалось небольшое количество мембран гранулярного ретикулума, полисомы отсутствовали, митохондрии были мелкими и малочисленными.

Базофильные эритробласты уступали по размерам проэритробластам, имели большое количество гетерохроматина, содержали в основном одно или два малых ядрышка с умеренным количеством гранул. Фибриллярных центров было от 3 до 8, в виде фибрилл толщиной 2-5 нм. Они были смещены на периферию ядер. Их форма имела сложно разветвленную конфигурацию. Ядрышковые вакуоли – светлые зоны внутри ядрышка, принимающие участие в депонировании, процессинге и транспорте рибосомной РНК – обнаруживались в умеренном количестве. Часть эритробластов находилась на различных стадиях апоптоза (рис. 1).

В полихроматофильных эритробластах ядрышки были практически лишены гранулярного компонента и представлены фибриллярными центрами эллиптической формы, окруженными выраженным слоем плотного фибриллярного компонента, представленного рибонуклеопротеиновыми нитями толщиной 4-8 нм, в состав которых входит

новосинтезированная прерибосомальная РНК. Ядрышковые вакуоли встречались в значительном количестве.

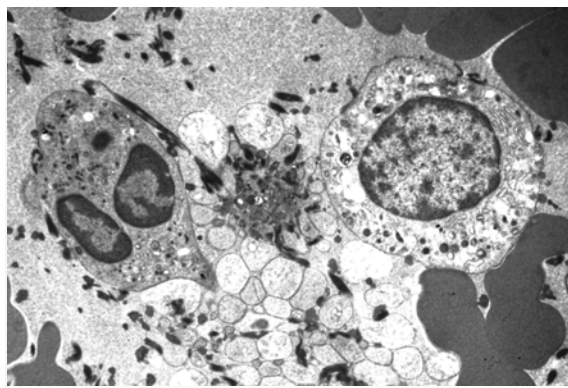


Рис. 1. Ультраструктура базофильного эритробласта и апоптоз эритроидной клетки красного костного мозга. Первая клиническая группа. Стеральный пунктат. Электронограмма. ×6000.

В ядрах полихроматофильных эритробластов наблюдалось от 1 до 4 ядрышек. Клетки имели ядро округлой формы, хроматин в виде крупных сгруппированных гранул, преобладал гетерохроматин. Цитоплазма имела умеренную электронную плотность, что связано с умеренным развитием гранулярной эндоплазматической сети, немногочисленные полирибосомы, что свидетельствовало об ограничении протекания процессов синтеза гемоглобина. Единичные митохондрии были небольшими, округлой формы, кристы деструктивированы, сохранена лишь наружная мембрана. В оксифильных эритробластах резко сокращались структуры нуклеолонемных ядрышек по сравнению с проэритробластами, однако объем гемоглобин-содержащих участков цитоплазмы возрастал незначительно. Наряду с этим в клеточных структурах обнаруживались признаки дегенерации: протоплазма содержала многочисленные вакуоли, происходила диссоциация в созревании ядра и протоплазмы (рис. 2).

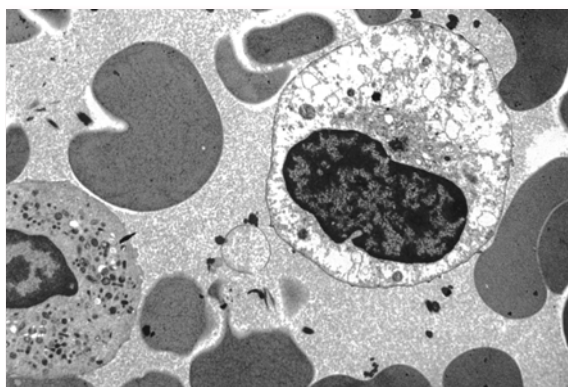


Рис. 2. Ультраструктура оксифильного эритробласта красного костного мозга. Первая клиническая группа. Стеральный пунктат. Электронограмма. ×10000.

Важно отметить, что процессы, связанные с формированием рибосом, характеризуются строгой пространственной упорядоченностью и развиваются в специализированной области ядра эритроидной клетки, где концентрируются интенсивно транскрибирующие гены и продукты их активности, а также осуществляются различные стадии процессинга рибосомной РНК вплоть до сборки зрелых прерибосомных субъединиц. Молекулярные события, связанные с биогенезом рибосом, отражаются в структурной организации ядрышка. По нашим данным, у больных с колоректальным раком на фоне анемического синдрома наблюдается развитие признаков неэффективного эритропоэза с умеренным замедлением дифференцировки эритробластов и задержкой выхода зрелых эритроцитов в системную циркуляцию.

В стернальном пунктате больных 1-й клинической группы часто обнаруживались ретикулоциты с большим количеством мелкодисперсного электронноплотного материала, что свидетельствовало о замедленном темпе терминального созревания эритроцитов. Иногда наблюдались ретикулоциты с остатками ядра в результате незавершенного класматоза. Также обнаруживались мегалоциты, что является дополнительным признаком неэффективного эритропоэза у больных с колоректальным раком.

Особое внимание в исследовании привлекло изучение ультраструктуры макрофагов, которые в нашем исследовании постоянно обнаруживались в составе стернальных пунктатов, являясь обязательным клеточным компонентом эритропоэтических островков костного мозга. Центральные макрофаги островков выделяют ростовые факторы, с помощью сиалоадгезинов он удерживает вокруг себя эритроидные клетки, обеспечивая их железом за счет наличия в цитоплазме трансферрина, также макрофаги вырабатывают эритропоэтин и фагоцитируют ядра, выходящие из эритроцита в процессе созревания.

У больных 1-й клинической группы при ультраструктурном исследовании была обнаружена высокая лизосомальная активность макрофагов с появлением большого количества вторичных лизосом различных размеров и электронной плотности. Многие макрофаги содержали по несколько фагоцитированных пикнотичных ядер эритробластов, в отдельных наблюдениях – апоптотически измененные формы эритроидных клеток. В цитоплазме макрофагов определялись расширенные цистерны гранулярной эндоплазматической сети, умеренное количество свободных полисом, мелкие плотные сферические митохондрии с повышенной функциональной активностью (рис. 3).

При интерпретации указанных изменений важно учитывать, что стимулирующий эффект макрофагов за счет продукции колониестимулирующих факторов эритропоэза в обычных условиях проявляется при содержании до 10% моноцитар-

ной популяции от общего числа клеток в эритропоэтических островках, тогда как при превышении этого порога наблюдается обратный эффект. Центральные макрофаги островков, секретируя стимулирующие и ингибирующие эритропоэз вещества, выполняют роль локального регулятора продукции эритроцитов, ориентируясь при этом на общий кислородный запрос организма. Это позволяет рассматривать центральные макрофаги как клетки, ответственные за формирование кровяного микроокружения, поддерживающего формирование эритроидного пула. Фагоцитарная активность макрофага значительна – поврежденные эритроциты полностью фагоцитируются за 10 минут; высокая лизосомальная активность и уровень кислой фосфатазы цитоплазмы позволяет макрофагу за сутки фагоцитировать до 16 ядер, переварить их за 40 минут, причем невозможно даже обнаружить остатки ядер, что говорит о быстром выделении продуктов их распада из клетки.

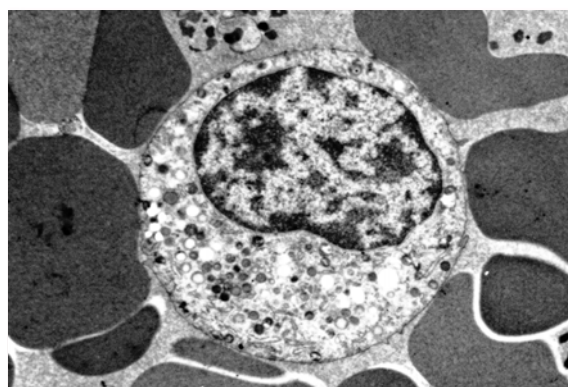


Рис. 3. Ультраструктура центрального макрофага красного костного мозга. Первая клиническая группа. Стернальный пунктат. Электронограмма. $\times 8000$.

По-видимому, на фоне анемического синдрома у больных с колоректальным раком происходит увеличение количества центральных макрофагов и нарастание их фагоцитарной активности, что в конечном итоге приводит к угнетению пролиферации эритроидных клеток и усугублению дисбаланса между пролиферативными и дифференцировочными процессами в рамках эритропоэза.

В нашем исследовании у больных 1-й клинической группы в интраоперационных биоптатах толстого кишечника обнаруживалась сохраненная структура кишечной стенки, однако под расширенной эпителиальной базальной мембраной в участках скопления бокаловидных клеток формировались небольшие по объему зоны интерстициального отека в составе собственной пластинки слизистой оболочки. Единичные гладкие миоциты в данных зонах имели признаки чрезмерного сокращения. В их цитоплазме наблюдались мозаичные дистрофические нарушения на фоне умеренной гиперплазии мембран гранулярной эндоплазматич-

ческой сети, появления делящихся форм митохондрий и увеличения числа рибосом и полисом. Столбчатые эпителиоциты и клетки Панета имели признаки активации внутриклеточного метаболизма, имеющего, на наш взгляд, компенсаторный характер. Незначительная часть колоноцитов, напротив, подвергалась внутриклеточной деструкции (рис. 4).

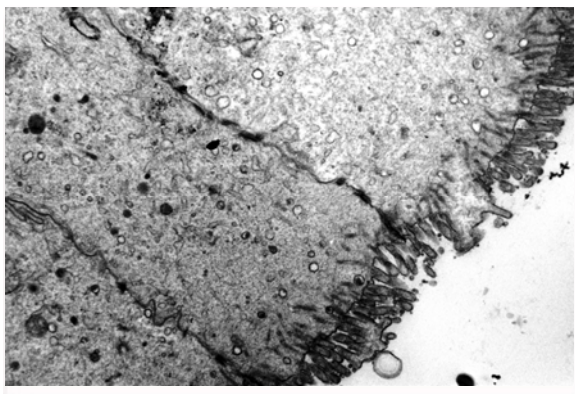


Рис. 4. Умеренные проявления внутриклеточной деструкции колоноцитов слизистой оболочки толстой кишки. Первая клиническая группа. Интраоперационный биоптат. Электронограмма. $\times 8000$.

Характерным в данной клинической группе пациентов было наличие суженных гемокapилляров, заполненных деформированными эритроцитами. В большинстве наблюдений плазматические мембраны эритроцитов имели существенные повреждения. Как правило, эритроциты своими разрыхленными поверхностями находились в тесной взаимосвязи с дезорганизованными частями люминальной поверхности эндотелиальных клеток. В этих участках цитоплазма эндотелиальных клеток была истонченной и насыщенной осмиофильными гомогенными массами. Вокруг узких опустошенных гемокapилляров наблюдались обширные зоны периваскулярного отека и экссудации с характерной нейтрофильной инфильтрацией. Аналогичные зоны обнаруживались в составе подслизистой основы вокруг спазмированных артериол с умеренными проявлениями стаза и расширенных венул, иногда содержащих сладжи эритроцитов и фестончатые эндотелиальные стенки. Дистрофические и деструктивные изменения органелл эндотелиальных клеток указывали на существенную эндотелиальную дисфункцию, а тканевые проявления описанных микроциркуляторных нарушений затрагивали все оболочки стенки толстой кишки вблизи пораженной колоректальной зоны (рис. 5).

У больных с колоректальным раком 2-й клинической группы через 5 суток после стимуляции эритропоэза эпоэтином-альфа наблюдалась заметная активация пролиферативной активности проэритробластов, а также базофильных и полихроматофильных эритробластов. На электронограммах существенно изменялась ультраструктура ядры-

шек. На фоне мозаично организованной нуклеоплазмы данных эритроидных клеток закономерно нарастала плотность ядрышкообразующих районов и фибриллярных центров. В ядрах базофильных эритробластов наблюдалось большое количество мелкозернистых структур гранулярного компонента и ядрышковых вакуолей, отвечающих за депонирование, процессинг и транспорт рибосомной РНК из нуклеоплазмы (рис. 6).

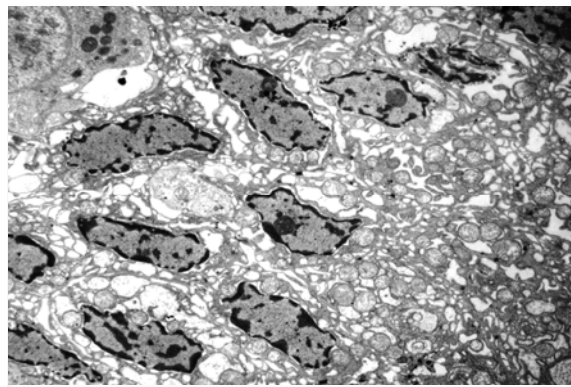


Рис. 5. Ультраструктура мышечной оболочки толстой кишки. Участок апоптотически измененных миоцитов. Первая клиническая группа. Интраоперационный биоптат. Электронограмма. $\times 3000$.

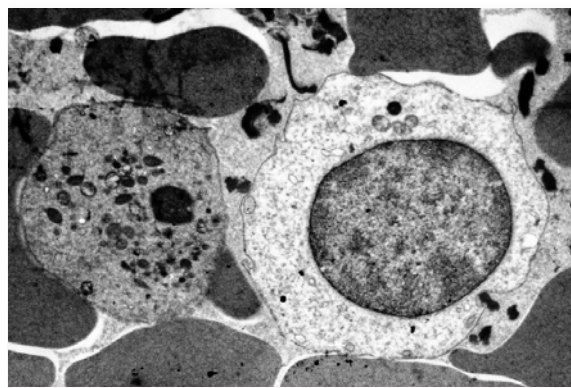


Рис. 6. Ультраструктура полихроматофильного эритробласта красного костного мозга. Клазматоз ядра из эритроидной клетки. Вторая клиническая группа. Стерильный пунктат. Электронограмма. $\times 8000$.

Оксифильные эритробласты уступали по размерам проэритробластам, имели большое количество гетерохроматина, содержали в основном одно или два малых ядрышка с умеренным количеством гранул. Фибриллярных центров было от 3 до 8, в виде фибрилл толщиной 2-5 нм. Они были смещены на периферию ядер. Их форма имела сложно разветвленную конфигурацию. Ядрышковые вакуоли (светлые зоны внутри ядрышка, принимающие участие в депонировании, процессинге и транспорте рибосомной РНК) обнаруживались в умеренном количестве. В крупных активных ядрах полихроматофильных эритробластов наблюдалось от 2 до 6 ядрышек. Цитоплазма имела значительную элек-

тронную плотность, хорошо развитый гранулярный ретикулум, большое количество полирибосом и активных митохондрий. Объем цитоплазмы с содержанием гемоглобина существенно нарастал по сравнению с 1-й клинической группой. Признаки дегенерации и апоптотические изменения созревающих эритроидных клеток наблюдались в единичных случаях.

В стернальном пунктате больных после стимуляции эритропоэза ретикулоциты имели характерную зернисто-сетчатую структуру цитоплазмы. Мегалоциты обнаруживались редко. Зрелые эритроциты имели нормальную конфигурацию. В основе наблюдаемых нами изменений эритропоэза находится ряд особенностей. Во-первых, стимуляция эритропоэза всегда сочетается с активацией в костном мозге процессов аэробного окисления: для регенерации эритрона на фоне анемии характерно увеличение скорости потребления кислорода клетками, интенсивности дыхания и окислительного фосфорилирования в их митохондриях, укорочение пути диффузии кислорода от капилляра к клетке, увеличение скорости кровотока в костном мозге, обусловленного увеличением его капилляризации за счет раскрытия нефункционирующих капилляров (эффекты метаболитов цикла Кребса, жирных кислот). Важная роль в этих изменениях принадлежит эритропоэтину, повышающему проницаемость мембран клеток костного мозга для кислорода. Во-вторых, анемический синдром, вызывая гипоксию почки, активирует в ее ткани метаболизм арахидоновой кислоты, метаболиты которой (простаглин), выступая как триггер для системы аденилатциклазы, увеличивают продукцию циклического аденозинмонофосфата, что приводит к последовательной активации протеинкиназы и фосфорилированию гидролазы, обеспечивающих усиление биосинтеза эритропоэтина в почке. В-третьих, в условиях кислородного дефицита количественно возрастает явление перескока терминального деления, приводящее к образованию макроцитов, но для основной полиферирующей части эритрона характерно увеличение числа делений с укорочением генерационного цикла для всех способных к делению эритроидных клеток. В костном мозге появляются эритропоэтические островки, содержащие 40-50 эритроидных клеток.

При изучении ультраструктуры макрофагов в составе стернальных пунктатов после стимуляции эритропоэза эпоэтином-альфа наблюдалась их умеренная лизосомальная активность, содержание в цитоплазме полиморфных вторичных лизосом было незначительным. Некоторые макрофаги содержали одно или два фагоцитированных ядра эритробластов (рис. 7). Апоптотические тельца эритроидных клеток обнаруживались в единичных случаях. Цитоплазма центральных макрофагов содержала хорошо развитый гранулярный эндоплазматический ретикулум, умеренное количество

свободных полисом, небольшие сферические митохондрии с умеренной плотностью крист и осмиофильным матриксом (рис. 8). В отличие от наблюдений в 1-й клинической группе, после стимуляции эритропоэза наблюдались частые митозы клеток моноцитарного ряда.

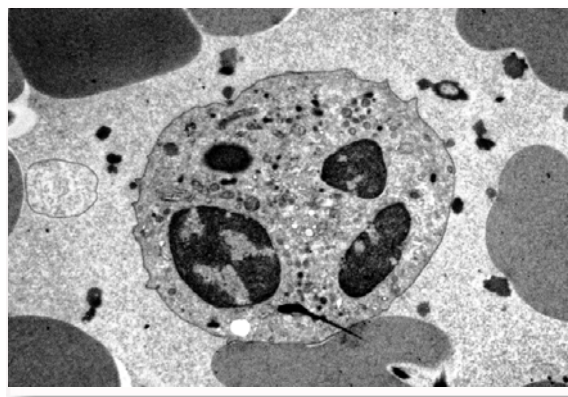


Рис. 7. Ультраструктура центрального макрофага красного костного мозга. Фагоцитоз ядер эритробластов и апоптотических телец эритроидных клеток. Вторая клиническая группа. Стернальный пунктат. Электронограмма. $\times 8000$.

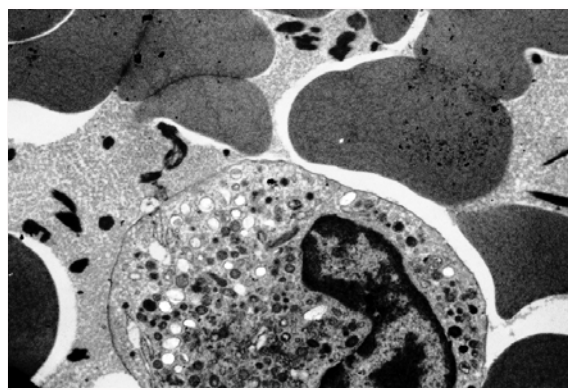


Рис. 8. Ультраструктура центрального макрофага красного костного мозга. Вторая клиническая группа. Стернальный пунктат. Электронограмма. $\times 10000$.

На фоне анемического синдрома при опухолевом процессе в костном мозге создаются условия для вовлечения его макрофагов в эритропоэз. Это обусловлено как появлением новых моноцитарных клеток в эритропоэтических островках, так и вынужденным увеличением повторной реконструкции инволютивных островков для новой волны эритропоэза. Возможно, что это связано с увеличением аффинитета макрофагов костного мозга к колониеобразующим единицам эритропоэза и ранним эритроидным клеткам под влиянием эритропоэтина.

Поддержание фагоцитарной активности центральных макрофагов эритропоэтических островков и процессов протеолиза их лизосомными протеиназами снижает комплементарность моноцитарных клеток к окружающим эритроид-

ным клеткам, что приводит к усиленному выходу в кровь высвобождающихся из островков ретикулоцитов. Кроме того, эритропоэтин усиливает пролиферацию не только эритроидных клеток в островках, но и их центральных макрофагов, что подтверждалось появлением многочисленных митозов моноцитарных клеток.

У больных 2-й клинической группы степень интерстициального отека в составе собственной пластинки слизистой оболочки была умеренной. В клетках кишечного эпителия внутриклеточная деструкция встречалась нечасто (рис. 9).

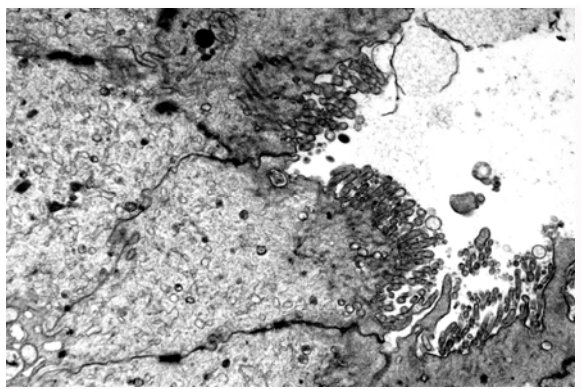


Рис. 9. Ультраструктура эпителиальной пластинки слизистой оболочки толстой кишки. Вторая клиническая группа. Интраоперационный биоптат. Электронограмма. $\times 8000$.

Гемокапилляры собственной пластинки слизистой оболочки имели обычный просвет и были заполнены неизменными эритроцитами. Цитоплазма эндотелиальных клеток имела стабильную морфологическую структуру. Периферические зоны эндотелиоцитов содержали характерные фенестры. Микроворсинки, указывающие на развитие гипоксии, не обнаруживались. Состояние ядер, митохондрий, гранулярного эндоплазматического ретикулаума, структур комплекса Гольджи эндотелиальных клеток большинства гемокапилляров свидетельствовало об отсутствии выраженной эндотелиальной дисфункции. В просветах фенестрированных гемокапилляров наблюдалось обычное содержание эритроцитов без признаков сладжирования. Вокруг гемокапилляров изредка обнаруживались незначительные по площади участки периваскулярного отека и экссудации без нейтрофильной инфильтрации ткани (рис. 10).

Воспалительная инфильтрация активированными лимфоцитами, тучными клетками и макрофагами отсутствовала. Лимфоидные образования подслизистой основы были без особенностей. Просветы венул оставались без признаков стаза, сладжа эритроцитов. Их стенки имели типичную структуру. Артериолы не имели признаков спазма и периапериартериолярного отека, некоторые из них были умеренно расширенными и полнокровными.

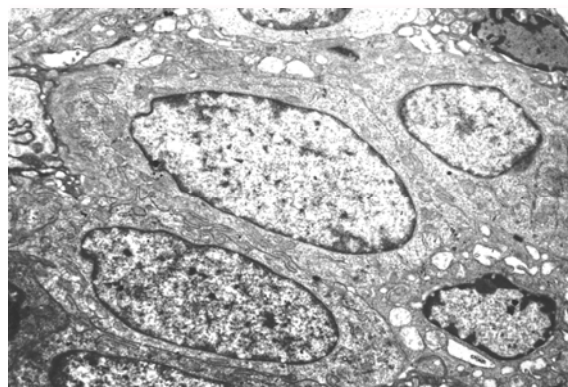


Рис. 10. Ультраструктура мышечной оболочки толстой кишки. Вторая клиническая группа. Интраоперационный биоптат. Электронограмма. $\times 4000$.

Заключение

Для большинства больных с колоректальным раком характерно развитие признаков неэффективного эритропоэза с умеренным замедлением дифференцировки эритробластов и задержкой выхода зрелых эритроцитов в системную циркуляцию. Стимуляция эритропоэза с помощью эпоэтина приводит к повышению функциональной активности центральных макрофагов эритропоэтических островков красного костного мозга и усилению их межклеточной ассоциации с созревающими эритроидными клетками. Это сопровождается формированием большого количества полноценных эритроцитов, увеличением численной плотности клеток эритроидного ряда и нормализацией их ультраструктуры.

Стимуляция эритропоэза с помощью эпоэтина в предоперационном периоде обуславливает сдерживание эндотелиальной дисфункции за счет ограничения дистрофических и деструктивных изменений органелл эндотелиальных клеток, стабилизации их мембран, предотвращения спазма артериол, явлений стаза и сладжа эритроцитов. Как следствие, явления инфильтрации, периваскулярного и интерстициального отека в составе оболочки кишечной стенки выражены гораздо в меньшей степени, чем в группе больных без предоперационной активации эритропоэза.

Перспективы дальнейших исследований связаны с анализом морфологии кишечника при различных подходах при хирургическом лечении больных с колоректальным раком.

Информация о конфликте интересов

Потенциальных или явных конфликтов интересов, связанных с этой рукописью, на момент публикации не существует и не предвидится.

Источники финансирования

Исследование проведено в рамках научно-исследовательской темы «Нормальный и аномальный морфогенез компонентов сердечно-сосудистой системы человека и экспериментальных животных» (номер государственной регистрации 0114U005592).

Литературные источники

References

1. American Cancer Society. Colorectal Cancer Facts & Figures 2014-2016. Atlanta: American Cancer Society. 2014. 32 p.
2. [Bulletin of national cancer registry of Ukraine 2015]. Vol. 16. Ukrainian.
3. Ovechkin AM, Sviridov SV. [Post-operative pain and pain management: state of the art]. Emergency medicine. 2011;6:20-31. Russian.
4. Novikov SP, Chebanov KO, Kirillova LA, Petruk NS, Frolov KB, Tverdokhle IV. [Optimization of anesthetic management of surgical treatment of colorectal cancer: clinical and morphological parallels]. Morphologia. 2016;10(3):23-30. Russian.
5. Novikov SP, Kirillova LA, Novikova PS, Tverdokhle IV. [Optimization of anesthetic management of surgical treatment of colorectal cancer. Part III: clinical and morphological aspects]. Morphologia. 2018;12(1):29-36. Russian.
6. Zakharov YuM. Regulation of erythropoiesis in the erythroblast islands of the bone marrow. Neuroscience and Behavioral Physiology. 2011;97(9):980-94.
7. An X, Schulz VP, Li J, Wu K, Liu J, Xue F, Hu J. Global transcriptome analyses of human and murine terminal erythroid differentiation. Blood. 2014;123:3466-77.
8. McGrath KE, Catherman SC, Palis J. Delineating stages of erythropoiesis using imaging flow cytometry. Methods. 2017;112:68-74.
9. Kuhrt D, Wojchowski DM. Emerging EPO and EPO receptor regulators and signal transducers. Blood. 2015;125:3536-41.
10. Kim A, Nemeth E. New insights into iron regulation and erythropoiesis. Curr. Opin. Hematol. 2015;22:199-205.
11. Hiraifar A, Banihosseinian M. The efficacy of recombinant human erythropoietin in treatment chemotherapy induced anemia in children diagnosed with a solid cancer. Iran J Ped Hematol Oncol. 2014;4(4):151-9.
12. Torre LA, Bray F, Siegel RL. Global cancer statistics. Cancer J. Clin. 2015;4:65-87.
13. Mironov AA, Komissarchik YuYa, Mironov VA. Metodyi elektronnoy mikroskopii v biologii i meditsine: Metodicheskoe rukovodstvo. [Electron microscopy methods in biology and medicine : Methodological Guide]. St. Petersburg: Science; 1994. 400 p. Russian.
14. Kuo J. Electron microscopy: methods and protocols. Totowa, New Jersey: Humana Press Inc. 2007. 608 p.
15. Tverdokhlib IV, Petruk NS, Ivanchenko MV, Silkina JuV, Khripkov IS, Pertseva NO, Shevchenko KM, Goodlett TO, Malkov II, Berehovenko IM, Zinenko DYU, Galaida NO, Varin VV, inventors; State Institution «Dnipropetrovsk medical academy of the Health Ministry of Ukraine». Method of determining the coordinates of ultrastructures in transmission electron microscopy of biological objects. Ukrainian patent UA 83611. 2013 Sep 25. Int. Cl. G01N 1/28. Ukrainian.
16. Mishalov VD, Chaikovskiy JuB, Tverdokhle IV. [About legal, legislative, ethical standards and requirements at performance scientific morphological researches]. Morphologia. 2007;1(2):108-15. Ukrainian.

Новіков С.П., Бондаренко Н.С., Васишин О.В., Кирилова Л.А., Фролов К.Б., Твердохліб І.В.
Роль стимуляції еритропоезу в передопераційній підготовці при хірургічному лікуванні хворих з колоректальним раком.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Анемічний синдром, який супроводжує розвиток патології у хворих з колоректальним раком, може стати причиною серйозних раних післяопераційних ускладнень. Є актуальним питання про те, як впливають заходи передопераційної підготовки на стан структур кишечника і клінічну ситуацію в цілому. Особливе значення в цій ситуації набуває корекція анемічного синдрому ще до проведення оперативного втручання за допомогою стимуляторів гемопоєзу. **Мета** дослідження – аналіз динаміки еритропоезу і змін тканинної і клітинної ультраструктури в інтраопераційних біоптатах товстої кишки після стимуляції еритропоезу в передопераційній підготовці при хірургічному лікуванні хворих з колоректальним раком. **Методи.** Проведено вивчення червоного кісткового мозку і стінки товстого кишечника за допомогою трансмісійної електронної мікроскопії. **Результати.** Для більшості хворих з колоректальним раком характерний розвиток ознак неефективного еритропоезу з помірним уповільненням диференціювання еритробластів і затримкою виходу зрілих еритроцитів у системну циркуляцію. Стимуляція еритропоезу за допомогою епоетину призводить до підвищення функціональної активності центральних макрофагів еритропоетичних острівців червоного кісткового мозку і посилення їх міжклітинної асоціації з дозріваючими еритроїдними клітинами. Це супроводжується формуванням великої кількості повноцінних еритроцитів, збільшенням чисельної щільності клітин еритроїдного ряду і нормалізацією їх ультраструктури. **Підсумок.** Стимуляція еритропоезу за допомогою епоетину в передопераційному періоді обумовлює стримування ендотеліальної дисфункції за рахунок обмеження дистрофічних і деструктивних змін органел ендотеліальних клітин, стабілізації їх мембран, запобігання спазму артеріол, явищ стазу і сладжа еритроцитів. Як наслідок, явища інфільтрації, пери-

васкулярного й інтерстиційного набряку в складі оболонок кишкової стінки виражені набагато меншою мірою, ніж у групі хворих без передопераційної активації еритропоезу.

Ключові слова: колоректальний рак, стимуляція еритропоезу, червоний кістковий мозок, товстий кишечник, трансмісійна електронна мікроскопія.

Новиков С.П., Бондаренко Н.С., Василишин А.В., Кириллова Л.А., Фролов К.Б., Твердохлеб И.В. Роль стимуляции эритропоеза в предоперационной подготовке при хирургическом лечении больных с колоректальным раком.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Анемический синдром, который сопровождает развитие патологии у больных с колоректальным раком, может стать причиной серьезных ранних послеоперационных осложнений. Является актуальным вопрос о том, как влияют мероприятия предоперационной подготовки на состояние структур кишечника и клиническую ситуацию в целом. Особое значение в этой ситуации приобретает коррекция анемического синдрома еще до проведения оперативного вмешательства с помощью стимуляторов гемопоэза. **Цель** исследования – анализ динамики эритропоеза и изменений тканевой и клеточной ультраструктуры в интраоперационных биоптатах толстой кишки после стимуляции эритропоеза в предоперационной подготовке при хирургическом лечении больных с колоректальным раком. **Методы.** Проведено изучение красного костного мозга и стенки толстого кишечника с помощью трансмиссионной электронной микроскопии. **Результаты.** Для большинства больных с колоректальным раком характерно развитие признаков неэффективного эритропоеза с умеренным замедлением дифференцировки эритробластов и задержкой выхода зрелых эритроцитов в системную циркуляцию. Стимуляция эритропоеза с помощью эпоэтина приводит к повышению функциональной активности центральных макрофагов эритропоэтических островков красного костного мозга и усилению их межклеточной ассоциации с созревающими эритроидными клетками. Это сопровождается формированием большого количества полноценных эритроцитов, увеличением численной плотности клеток эритроидного ряда и нормализацией их ультраструктуры. **Заключение.** Стимуляция эритропоеза с помощью эпоэтина в предоперационном периоде обуславливает сдерживание эндотелиальной дисфункции за счет ограничения дистрофических и деструктивных изменений органелл эндотелиальных клеток, стабилизации их мембран, предотвращения спазма артериол, явления стаза и сладжа эритроцитов. Как следствие, явления инфильтрации, периваскулярного и интерстициального отека в составе оболочек кишечной стенки выражены гораздо в меньшей степени, чем в группе больных без предоперационной активации эритропоеза.

Ключевые слова: колоректальный рак, стимуляция эритропоеза, красный костный мозг, толстый кишечник, трансмиссионная электронная микроскопия.