

## КОНЦЕНТРАЦИЯ ЭРИТРОПОЭТИНА В КРОВИ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

<sup>1</sup>Осиков М.В., <sup>1</sup>Альмухаметова О.Н., <sup>1</sup>Климова Е.В., <sup>1</sup>Федосов А.А.

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64), e-mail: [prof.osikov@yandex.ru](mailto:prof.osikov@yandex.ru)

Перспективным является применение рекомбинантного человеческого эритропоэтина (ЭПО) у недоношенных детей не только для лечения анемии, но и с целью коррекции иммунологического и неврологического статусов, что затрудняется отсутствием или противоречивостью данных о концентрации эндогенного ЭПО в сыворотке. Цель работы – исследовать концентрацию эритропоэтина в сыворотке у недоношенных детей различного гестационного возраста в динамике первых двух недель после рождения и ее связь с состоянием новорожденного по шкале Апгар и гестационным возрастом. Исследование выполнено на 32 новорожденных с гестационным возрастом 37 недель и старше (доношенные новорожденные), от 27 недель до 36 недель и 6 дней включительно (недоношенные новорожденные). Установлено, что концентрация ЭПО в сыворотке у доношенных детей (средний гестационный возраст 39 недель, показатель по шкале Апгар 6,6 балла) составляет 3,03 мМЕ/мл в 1-е сутки и 3,33 мМЕ/мл на 10-е сутки после рождения. Концентрация ЭПО в сыворотке у недоношенных детей с гестационным возрастом от 27 недель до 36 недель и 6 дней (показатель по шкале Апгар 4,32 балла) повышена на 1-е сутки после рождения и не отличается от группы доношенных детей на 10-е сутки. У недоношенных с гестационным возрастом от 27 недель до 31 недели и 6 дней (показатель по шкале Апгар 3,33 балла) концентрация ЭПО в сыворотке увеличивается на 1-е сутки и снижается на 10-е сутки после рождения. У недоношенных с гестационным возрастом от 32 недель до 36 недель и 6 дней (показатель по шкале Апгар 5,5 балла) концентрация ЭПО в сыворотке снижается на 1-е сутки после рождения и не отличается от группы доношенных детей на 10-е сутки. Концентрация ЭПО в сыворотке у недоношенных с гестационным возрастом от 27 недель до 31 недели и 6 дней в 1-е сутки после рождения повышается, а на 10-е сутки после рождения снижается по мере снижения гестационного возраста и снижения суммарного количества баллов по шкале Апгар.

Ключевые слова: эритропоэтин, недоношенные дети.

## CONCENTRATION OF BLOOD ERYTHROPOIETIN IN PRETERM INFANTS

<sup>1</sup>Osikov M.V., <sup>1</sup>Almukhametova O.N., <sup>1</sup>Klimova E.V., <sup>1</sup>Fedosov A.A.

<sup>1</sup>South Ural State Medical University of Health Ministry of Russia, Chelyabinsk, Russia (454092, Chelyabinsk, Vorovskogo str., 64), e-mail: [prof.osikov@yandex.ru](mailto:prof.osikov@yandex.ru)

The use of recombinant human erythropoietin (EPO) in preterm infants both for anemia treatment and correction of immunological and neurological status is considered a prospective direction, but it is complicated by the lack or inconsistency of data on the concentration of endogenous EPO in serum. The aim of the study is to determine the concentrations of serum erythropoietin in preterm infants of different gestational age in the dynamics of the first two weeks after birth and its relationship with the Apgar score and gestational age of the newborn. The study enrolled 32 infants with a gestational age of 37 weeks and older (full-term newborns) and from 27 to 36 weeks and 6 days (preterm infants) respectively. The concentration of serum EPO in full-term infants (mean gestational age 39 weeks, Apgar score 6.6) is 3.03 mIU/ml on the 1<sup>st</sup> day and 3.33 mIU/ml on 10<sup>th</sup> day after birth. The concentration of serum EPO in preterm infants with a gestational age of 27-36 weeks and 6 days (Apgar scores 4.32 points) was higher by 1<sup>st</sup> day after birth and didn't differ from a group of full-term infants on 10<sup>th</sup> day. In preterm infants with gestational age 27-31 weeks and 6 days (Apgar score 3.33), the concentration of serum EPO is higher by the 1<sup>st</sup> day and is lower by 10<sup>th</sup> day after birth. In preterm infants with gestational age 32-36 weeks and 6 days (Apgar score 5.5), the concentration of serum EPO was lower on 1<sup>st</sup> day after the birth, and it didn't differ from indices in the group of full-term infants on 10<sup>th</sup> day. The concentration of serum EPO in preterm infants with 27-31 weeks 6 days of gestation increases on the 1<sup>st</sup>, decreases on 10<sup>th</sup> day after birth as gestational age decreasing, and the total Apgar score reduces.

Keywords: erythropoietin, preterm infants.

С 1906 г. благодаря пионерской работе французских ученых Р. Carnot and С. Deflandre эритропоэтин (ЭПО) стал известен, прежде всего, как гемопоэтин – фактор, стимулирующий образование эритроцитов de novo. Основной точкой приложения для действия ЭПО

являются клетки эритроидного ряда в костном мозге: бурс- и колониеобразующие единицы гранулоцитарно-моноцитарно-мегакариоцитарно-эритроцитарные, эритроцитарные, а также эритробласты и пронормобласты, на которых имеются специфические рецепторы. Последние 25 лет внимание многих исследователей сосредоточено на негемопоэтических, плейотропных эффектах ЭПО. Это связано с обнаружением рецепторов для ЭПО на клетках незритроидных тканей, таких как нейроны, глиальные клетки, клетки почек, кардиомиоциты, гладкомышечные клетки, эндотелиоциты, лимфоциты, моноциты и др. Продемонстрированы кардипротекторные, нефроцитопротекторные свойства ЭПО, регуляторное влияние ЭПО на систему гемостаза, иммунный статус у больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности и при другой патологии [1-5]. Особый интерес вызывают нейротропные эффекты ЭПО. Рецепторы к ЭПО обнаружены в нервной ткани более 20 лет назад, позже была зафиксирована способность клеток астроглии синтезировать ЭПО. ЭПО играет большую роль в эмбриональном развитии мозга. Его рецептор и сам ЭПО в большом количестве обнаруживают в мозге эмбрионов. У плода человека в ткани головного мозга с 8-й по 24-ю недели беременности обнаруживают экспрессию мРНК ЭПО и рецептора ЭПО, их экспрессия вдвойне усиливается при гипоксических воздействиях. У эмбрионов животных с врожденным дефицитом ЭПО обнаруживают гипоплазию ткани мозга и повышенную активность процессов апоптоза. В эксперименте ЭПО напрямую вызывает деление стволовых клеток головного мозга и их дальнейшую дифференцировку.

Недоношенные дети подвержены высокому риску развития энцефалопатии, в том числе когнитивному дефициту, нарушению поведения, эпилепсии, проспективному психомоторному дефициту. В настоящее время в клинической практике отсутствуют целевые нейропротекторные терапевтические подходы у недоношенных детей. Результаты многоцентрового исследования ELGAN (Extremely Low Gestational Age Newborn) (Швейцария, 2014, 2015) с участием 165 детей продемонстрировали, что применение рекомбинантного человеческого ЭПО в первые 42 ч после преждевременных родов уменьшает риск повреждения головного мозга [8]. В частности, при анализе результатов магнитно-резонансной томографии головного мозга показано улучшение развития белого вещества мозолистого тела, внутренней капсулы, кортико-спинального тракта [9]. ЭПО в долгосрочной перспективе улучшает когнитивную функцию у недоношенных детей: при оценке антропометрических показателей, зрения и слуха установлено, что применение ЭПО приводит к улучшению показателей, оцениваемых через 18 и 22 месяца [10]. В экспериментальных условиях *in vivo* при моделировании повреждения ЦНС у недоношенных путем пренатальной кратковременной системной гипоксии-ишемии у крыс линии Sprague-Dawley установлена активация гибели нейронов IV слоя коры больших

полушарий головного мозга, участков гиппокампа и др. структур путем апоптоза в связи с кальпаин-зависимым повреждением калий-хлоридного котранспортера KCC2 и нарушением экспрессии субъединиц рецептора для тормозного медиатора ГАМК. Полагают, что созревание тормозных механизмов с участием ГАМК является ключевым для формирования баланса между возбуждающими и тормозными влияниями в ЦНС. ЭПО оказывает нейропротекторное действие, снижая активность кальпаина, восстанавливает активность KCC2, снижает потери KCl, способствует нормальному формированию тормозных центральных контуров и препятствует развитию когнитивных нарушений и эпилептогенезу [6]. Возникает вопрос о связи концентрации ЭПО в сыворотке у недоношенных детей с изменениями неврологического статуса и изменениями иммунного статуса, в частности показателями системного воспалительного ответа. Данные литературы о концентрации ЭПО в крови у недоношенных детей скудны, зачастую противоречивы, что препятствует обоснованному назначению ЭПО для коррекции и профилактики патологии, ассоциированной с преждевременными родами. Цель работы – исследовать концентрацию эритропоэтина в сыворотке у недоношенных детей различного гестационного возраста в динамике первых двух недель после рождения и ее связь с состоянием новорожденного по шкале Апгар и гестационным возрастом.

**Материалы и методы исследования.** Исследование выполнено на 32 новорожденных, находящихся в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных Клиники ГБОУ ВПО «ЮУГМУ» Минздрава России. От родителей новорожденных было получено письменное информированное согласие, исследование одобрено этическим комитетом ГБОУ ВПО «ЮУГМУ» Минздрава России. Экзогенный ЭПО исследуемым новорожденным не назначался. Все новорожденные были разделены на 4 группы. Группа 1 – доношенные новорожденные (гестационный возраст 37 недель и старше) (n=10), группа 2 – недоношенные новорожденные (гестационный возраст от 27 недель до 36 недель и 6 дней включительно) (n=22). Недоношенные новорожденные дети во 2 группе в зависимости от гестационного возраста были разделены на 2 группы: группа 3 - недоношенные новорожденные с гестационным возрастом от 27 недель до 31 недели и 6 дней включительно (n=12), группа 4 - недоношенные новорожденные с гестационным возрастом от 32 недель до 36 недель и 6 дней включительно (n=10). Оценку состояния новорожденного в первые минуты жизни проводили по шкале Апгар. Определение концентрации ЭПО в сыворотке проводили на автоматическом иммунохимическом анализаторе IMMULITE 2000 (Siemens, Германия) с применением тест-системы IMMULITE 2000 EPO (Siemens, Германия), результат выражали в мМЕ/мл. Исследования проводили в 1-е и 10-е сутки после рождения. Статистический анализ проведен с использованием пакета

прикладных программ Statistica for Windows v.10.0. Проверку статистических гипотез проводили с использованием критериев Краскела-Уоллиса, Манна-Уитни, Вальда-Вольфовитца, наличие связи между показателями исследовали с помощью коэффициента корреляции Спирмена. Отличия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** Общая характеристика исследуемых групп отражена в табл. 1.

**Таблица 1**

Общая характеристика исследуемых групп детей ( $M \pm m$ )

Показатели	Группа 1 (n=10)	Группа 2 (n=22)	Группа 3 (n=10)	Группа 4 (n=12)
Гестационный возраст, недели	39,00±0,56	30,55±0,56	28,50±0,45	33,00±0,29
Показатель по шкале Апгар, баллы	6,60±0,43	4,32±0,35	3,33±0,41	5,50±0,29

Средний гестационный возраст в группе доношенных детей составил 39 недель, средний показатель по шкале Апгар 6,6. В общей группе недоношенных детей (группа 2) средний гестационный возраст 30,6 недели, средний показатель по шкале Апгар 4,3. В группе 3 недоношенные дети имели средний гестационный возраст 28,5 недели, средний показатель по шкале Апгар 3,3; в группе 4 – 33 недели и 5,5 балла соответственно.

Концентрация ЭПО в сыворотке у новорожденных представлена в табл. 2.

**Таблица 2**

Концентрация ЭПО в сыворотке у исследуемых групп детей (мМЕ/мл,  $M \pm m$ )

Группа 1 Контроль (с 37 нед.)	Группа 2 (27 нед. - 36 нед. + 6 дней)	Группа 3 (27 нед. - 31 нед. + 6 дней)	Группа 4 (32 нед. - 36 нед. + 6 дней)
1-е сутки после рождения			
3,03±0,24	22,17±4,71 *	38,88±4,65 *	2,11±0,29 * ** ***
10-е сутки после рождения			
3,33±0,35	2,08±0,28 #	1,69±0,21 * #	2,54±0,53 ** ***

Примечание: \* - статистически значимые ( $p < 0,05$ ) различия с группой 1, \*\* - с группой 2, \*\*\* - с группой 3, # - статистически значимые ( $p < 0,05$ ) различия внутри группы с показателями 1-й недели.

Как видно, у доношенных новорожденных (группа 1) она составляет в среднем 3,03 и 3,33 мМЕ/мл на 1-е и 10-е сутки после рождения соответственно. У недоношенных детей (группа 2) в 1-е сутки после рождения концентрация ЭПО увеличивается в 6,3 раза, а к 10-м суткам не отличается от значений в группе доношенных детей. При разделении

недоношенных детей в зависимости от гестационного возраста установлено, что при гестационном возрасте от 27 недель до 31 недели и 6 дней (группа 3) концентрация ЭПО в 1-е сутки после рождения возрастает в 11,7 раза, а на 10-е сутки – снижается на 49% от средних значений в группе доношенных детей. При гестационном возрасте от 32 недель до 36 недель и 6 дней (группа 4) концентрация ЭПО в 1-е сутки после рождения снижается на 30%, а на 10-е сутки не отличается от средних значений в группе доношенных детей. Концентрация ЭПО в сыворотке в динамике наблюдения от 1-х к 10-м суткам после рождения значимо снижается в общей группе недоношенных детей и в группе недоношенных с гестационным возрастом от 27 недель до 31 недели и 6 дней.

Для выяснения наличия и характера связи между концентрацией ЭПО в сыворотке и гестационным возрастом, показателями по шкале Апгар использован корреляционный анализ, его результаты представлены в табл. 3.

**Таблица 3**

Корреляция между концентрацией эритропоэтина в сыворотке, показателем по шкале Апгар и гестационным возрастом у недоношенных детей

Концентрация эритропоэтина, мМЕ/мл	Показатель по шкале Апгар, баллы			Гестационный возраст, недели		
	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 2	Группа 3	Группа 4
1-е сутки п/рожд.	<b>R=-0,57</b>	<b>R=-0,93</b>	R=-0,82	<b>R=-0,77</b>	<b>R=-0,88</b>	R=-0,79
10-е сутки п/рожд.	<b>R=0,53</b>	<b>R=0,89</b>	R=0,63	R=0,42	<b>R=0,93</b>	R=-0,79

Примечание: приведены значения коэффициента корреляции Спирмена. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые ( $p < 0,05$ ) данные.

Установлено наличие отрицательной сильной и средней силы статистически значимой связи между концентрацией ЭПО в сыворотке в 1-е сутки наблюдения и гестационным возрастом, а также показателями по шкале Апгар в общей группе недоношенных детей и в группе недоношенных с гестационным возрастом от 27 недель до 31 недели и 6 дней. Такие ассоциативные взаимоотношения между показателями позволяют говорить о том, что концентрация ЭПО в сыворотке нарастает по мере снижения гестационного возраста и количества баллов по шкале Апгар. Кроме этого, зафиксирована положительная сильная связь между концентрацией ЭПО в сыворотке на 10-е сутки наблюдения и гестационным возрастом в группе недоношенных с гестационным возрастом от 27 недель до 31 недели и 6 дней, а также положительная сильная и средней силы связь между концентрацией ЭПО в сыворотке на 10-е сутки наблюдения и показателями по шкале

Апгар в общей группе недоношенных детей и в группе недоношенных с гестационным возрастом от 27 недель до 31 недели и 6 дней.

Возникает вопрос о прогностической значимости гиперэритропоэтинемии у недоношенных детей в первые сутки после рождения. Другими исследователями с использованием моделей логистической регрессии с поправкой на гестационный возраст в рамках проекта ELGAN (Extremely Low Gestational Age Newborn) изучена ассоциация между гиперэритропоэтинемией (гиперЭПО) у недоношенных детей и поражением ЦНС (УЗ-признаки вентрикуломегалии, гипоехогенных образований, микроцефалии, подтипы церебрального паралича – квадрипаретический, дипаретический, гемипаретический) [7]. Установлено, что гиперЭПО ассоциирована с дисфункцией ЦНС (снижение индексов психического и психосоматического развития), микроцефалией. Риск наступления этих событий был выше при сочетании гиперЭПО и повышении показателей системного воспалительного ответа (SIRS). В то же время сочетание гиперЭПО и повышения показателей SIRS дополнительно связано с высоким риском вентрикуломегалии и гемипареза, но не других подтипов церебрального паралича. Таким образом, гиперЭПО выступает самостоятельным, независимым фактором риска поражений ЦНС у недоношенных детей. Авторы испытывают затруднения в интерпретации полученных результатов и справедливо отмечают, что наличие ассоциации не позволяет выстраивать причинно-следственные отношения между событиями. Не ясно, каким образом гиперЭПО способствует повреждению головного мозга. Возможно, это связано с некоторыми плейотропными эффектами ЭПО, в том числе активацией нейро- и ангиогенеза, про- или противовоспалительным действием. В то же время гиперЭПО может выступать в роли свидетеля, а не пускового фактора или звена патогенеза незрелости ЦНС или несостоятельности систем нейропротекции у недоношенных детей. Обнаруженный факт взаимосвязи риска дисфункции и повреждения головного мозга с гиперЭПО не исключает возможность того, что терапия ЭПО может рассматриваться в качестве нейропротекции, но указывает на необходимость проведения дополнительных исследований эффектов экзогенного ЭПО у недоношенных детей. Кроме того, не ясна связь между концентрацией эндогенного ЭПО в крови и в головном мозге.

### **Выводы**

1. Концентрация ЭПО в сыворотке у доношенных детей со средним гестационным возрастом 39 недель и показателем по шкале Апгар 6,6 балла составляет 3,03 мМЕ/мл в 1-е сутки после рождения и 3,33 мМЕ/мл на 10-е сутки после рождения.
2. Концентрация ЭПО в сыворотке у недоношенных детей с гестационным возрастом от 27 недель до 36 недель и 6 дней повышена в 1-е сутки после рождения и не отличается от

группы доношенных детей на 10-е сутки. У недоношенных с гестационным возрастом от 27 недель до 31 недели и 6 дней концентрация ЭПО в сыворотке увеличивается в 1-е сутки и снижается на 10-е сутки после рождения. У недоношенных с гестационным возрастом от 32 недель до 36 недель и 6 дней концентрация ЭПО в сыворотке снижается в 1-е сутки после рождения и не отличается от группы доношенных детей на 10-е сутки.

3. Концентрация ЭПО в сыворотке у недоношенных с гестационным возрастом от 27 недель до 31 недели и 6 дней в 1-е сутки после рождения повышается, а на 10-е сутки после рождения снижается по мере снижения гестационного возраста и снижения суммарного количества баллов по шкале Апгар.

### Список литературы

1. Осиков М.В. Анализ гематологических эффектов эритропоэтина у больных хронической почечной недостаточностью, находящихся на диализе / М.В. Осиков, К.В. Ахматов, Л.В. Кривохижина, В.Ю. Ахматов // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Сер.: Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2009. – № 20 (153). - С. 79-82.
2. Осиков М.В. Влияние эритропоэтина на функциональную активность тромбоцитов / М.В. Осиков, Т.А. Григорьев, А.А. Федосов, Д.А. Козочкин, М.А. Ильиных // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 6. – URL: [www.science-education.ru/106-7450](http://www.science-education.ru/106-7450) (дата обращения: 05.06.2015).
3. Осиков М.В. Роль эритропоэтина в реализации тромбоцитарно-клеточных взаимодействий в крови при хронической почечной недостаточности / М.В. Осиков, Т.А. Григорьев, А.А. Федосов // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 10-2. – С. 285-289.
4. Осиков М.В. Эритропоэтин как регулятор экспрессии тромбоцитарных гликопротеинов / М.В. Осиков, Т.А. Григорьев, А.А. Федосов, Д.А. Козочкин, М.А. Ильиных // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 1. – URL: [www.science-education.ru/107-7731](http://www.science-education.ru/107-7731) (дата обращения: 05.06.2015).
5. Осиков М.В. Уровень эритропоэтина и иммунный статус организма у больных хронической почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе / М.В. Осиков, Л.Ф. Телешева, Ю.И. Агеев, А.А. Федосов // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 4. – URL: [www.science-education.ru/110-9973](http://www.science-education.ru/110-9973) (дата обращения: 05.06.2015).
6. Jantzie L.L. Erythropoietin attenuates loss of potassium chloride co-transporters following prenatal brain injury / Jantzie L.L., Getsy P.M., Firl D.J. et al. // Mol. Cell Neurosci. – 2014. – Vol. 61. – P. 152-62.
7. Korzeniewski S.J. Elevated Endogenous Erythropoietin Concentrations Are Associated with

Increased Risk of Brain Damage in Extremely Preterm Neonates / S.J. Korzeniewski, E. Allred, J.W. Logan et al. // PLoS One. – 2015. – Vol. 10, № 3. – doi: 10.1371/journal.pone.0115083.

8. Leuchter R.H. Association between early administration of high-dose erythropoietin in preterm in fan sand brain MRI abnormality at term-equivalent age / R.H. Leuchter, L. Gui, A. Poncet et al. // JAMA. – 2014. – Vol. 312, № 8. – P. 817-324.

9. O'Gorman R.L. Tract-based spatial statistics to assess the neuroprotective effect of early erythropoietin on white matter development in preterm infants / R.L. O'Gorman, H.U. Bucher, U. Held et al. // Brain. – 2015. – Vol. 138, Pt. 2. – P. 388-397.

10. Ohls R.K. Cognitive outcomes of preterm infants randomized to darbepoetin, erythropoietin, or placebo / R.K. Ohls, B.D. Kamath-Rayne, R.D. Christensen et al. // Pediatrics. – 2014. – Vol. 133, № 6. – P. 1023-1030.

#### **Рецензенты:**

Волосников Д.К., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой госпитальной педиатрии, клинической иммунологии и аллергологии ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск;

Головнева Е.С., д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск.