

## ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И КОНЦЕНТРАЦИЯ ЭРИТРОПОЭТИНА В СЫВОРОТКЕ У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ ОЧЕНЬ РАННИХ И РАННИХ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ

Осиков М.В.<sup>1</sup>, Альмухаметова О.Н.<sup>1</sup>, Евтушенко В.П.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, e-mail: prof.osikov@yandex.ru;

<sup>2</sup>Государственное бюджетное профессиональное образовательное учреждение Департамента здравоохранения города Москвы «Медицинский колледж № 7», Челябинск, e-mail: vpevtushenko@mail.ru

Недоношенные новорожденные составляют большую группу риска по развитию осложнений, связанных с незрелостью клеток крови, поэтому мониторинг и интерпретация гематологических показателей у данной группы новорожденных имеют принципиальное значение в контексте проводимых диагностических и терапевтических мероприятий. Исследование было выполнено на 32 новорожденных, в том числе 10 недоношенных новорожденных со сроком гестации от 27 недель до 31 недели и 6 дней и массой тела 800–1500 г (экстремально низкой массой тела и очень низкой массой тела). Гематологические показатели, концентрацию эритропоэтина и ферритина в плазме крови исследовали на 1-е, 3-и, 8-е, 18-е сутки после рождения. Нами было установлено, что у недоношенных новорожденных от очень ранних и ранних преждевременных родов на 8-е сутки жизни наблюдаются признаки анемии, нарастающие по мере снижения гестационного возраста, на 1-е, 3-и 8-е, 18-е сутки жизни в крови снижаются количество тромбоцитов и тромбоцит, увеличиваются средний размер тромбоцитов и ширина распределения тромбоцитов по размеру, в сыворотке крови снижается концентрация ферритина, повышается концентрация эритропоэтина.

Ключевые слова: эритроциты, тромбоциты, ферритин, эритропоэтин, недоношенные дети.

## HEMATOLOGICAL INDICATORS AND CONCENTRATION OF ERYTHROPOETIN IN SERUM IN UNEMPLOYED NEWBORNS FROM VERY EARLY AND EARLY PREMATURE GENUS

Osikov M.V.<sup>1</sup>, Almuhametova O.N.<sup>1</sup>, Evtushenko V.P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>FSBEI HE «South Ural State Medical University» of the Ministry of Health of Russia, Chelyabinsk, e-mail: prof.osikov@yandex.ru;

<sup>2</sup>State budget professional educational institution of the Moscow City Health Department «Medical College No. 7», Chelyabinsk, e-mail: vpevtushenko@mail.ru

Premature newborns constitute a large risk group for the development of complications associated with the immaturity of blood cells, therefore monitoring and interpretation of hematological parameters in this group of newborns are of fundamental importance in the context of ongoing diagnostic and therapeutic activities. The study was performed on 32 newborns, including 10 preterm infants with a gestation period of 27 weeks to 31 weeks and 6 days and a body weight of 800-1500 g (extremely low body weight and very low body weight). Hematologic indices, the concentration of erythropoietin and ferritin in the blood plasma were examined at 1, 3, 8, 18 days after birth. We found that in preterm infants from very early and early premature births on the 8th day of life there are signs of anemia that increase as the gestational age decreases, on the 1, 3, 8, 18th day of life in the blood, the platelet count and thrombolite decrease, the average the size of platelets and the width of platelet distribution by size, the concentration of ferritin decreases in serum, the concentration of erythropoietin increases.

Keywords: erythron, platelets, ferritin, erythropoietin, premature infants.

В последние годы отмечается все большая тенденция к рождению недоношенных детей, в том числе детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела. В 2010 г. более 15 млн детей родились преждевременно [1]. Современные технологии лечения и выхаживания способствуют повышению выживаемости недоношенных новорожденных (НН) и уменьшению ранней детской инвалидизации, тем не менее недоношенные дети

составляют группу максимального риска по формированию тяжелой патологии, связанной с незрелостью органов и систем. Одной из ключевых проблем у НН является анемия – anemia of prematurity (AOP), патогенез которой до сих пор не ясен. Эритропоэтин (ЭПО), сведения о концентрации в сыворотке у НН которого в литературе противоречивы, а также ферритин могут иметь значение в формировании изменений периферического отдела эритрона. Цель работы – исследовать гематологические показатели, характеризующие состояние периферического отдела эритрона и тромбоцитов в крови, у НН от очень ранних и ранних преждевременных родов.

**Материалы и методы исследования.** Исследование выполнено на 32 новорожденных в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных Клиники ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России. От родителей новорожденных получено письменное информированное согласие, исследование одобрено этическим комитетом ЮУГМУ. Группа I (n=22) – доношенные новорожденные с гестационным возрастом 37–40 недель, с проявлениями дыхательной недостаточности 2–3-й степени. Группа II (n=10) – НН со сроком гестации от 27 недель до 31 недели и 6 дней и массой 800–1500 г (экстремально низкой, очень низкой массой тела). Критерии исключения: новорожденные с гестационным возрастом 27 недель – 36 недель 6 дней гестации с признаками анемии в 1-е сутки жизни, с врожденными пороками развития, хромосомными и генетическими заболеваниями, задержкой внутриутробного развития II и III степени. Новорожденным назначено общепринятое лечение: респираторная и сурфактантная терапия, температурный режим, влажность, ограничение сенсорных воздействий, проведение энтерального и парентерального питания согласно стандартам. Оценку состояния в первые минуты жизни проводили по шкале Апгар. Исследования выполнены на 1-е, 3-и, 8-е и 18-е сутки после рождения. Кровь забирали в пробирки «Вакуэт» (Австрия) на 1-е сутки из пуповинной крови в объеме 5–7 мл, на 3-и, 8-е и 18-е сутки – из глубоких венозных линий в объеме 500 мкл. На автоматическом гематологическом анализаторе «Act Diff» («Beckman Coulter») в крови определяли: количество эритроцитов (RBC), концентрацию гемоглобина (HGB), гематокрит (HCT), средний объем эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците (MCHC), показатель гетерогенности эритроцитов (RDW), количество тромбоцитов (PLT), средний объем тромбоцита (MPV), показатель гетерогенности тромбоцитов (PDW), тромбокрит (PCT). Определение концентрации ЭПО и ферритина в плазме проводили на анализаторе «IMMULITE 2000» с использованием соответствующих тест-систем (Biomerica, США). 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 (R). Отличия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** По сравнению с группой доношенных новорожденных на 1-е сутки жизни у НН от очень ранних и ранних преждевременных родов не зафиксировано статистически значимых изменений количества эритроцитов, концентрации гемоглобина, гематокрита, среднего эритроцитарного объема, среднего содержания гемоглобина и средней концентрации гемоглобина в эритроците (табл. 1). Отметим тенденцию к увеличению концентрации гемоглобина и гематокрита, вероятно, связанную с гемоконцентрацией. Обращает на себя внимание значимое снижение количества тромбоцитов и тромбокрита, данные показатели не выходят за границы референсных значений для новорожденных [2] и могут быть связаны с ограничением тромбоцитопоэза и/или мегакариоцитопоэза, повышением потребления тромбоцитов или ускорением разрушения тромбоцитов в кровотоке.

На 3-и сутки жизни у НН не изменялись исследуемые показатели периферического отдела эритрона, снижалось количество тромбоцитов, тромбокрита, увеличивались средний тромбоцитарный объем, ширина распределения тромбоцитов по размеру (табл. 1). Гетерогенность циркулирующих тромбоцитов по размеру в сторону преобладания крупных клеток свидетельствует об активации синтеза тромбоцитов в костном мозге и выходе молодых (крупных) тромбоцитов в кровоток. На 8-е сутки жизни у НН относительно доношенных в крови снижаются количество эритроцитов, концентрация гемоглобина, гематокрит (табл. 2). Указанные показатели были снижены и относительно референсных значений для новорожденных [2]. Показатели, характеризующие размер эритроцитов (MCV), а также содержание гемоглобина в эритроците (MCHC, MCH), значимо не отличались от группы доношенных новорожденных. Кроме этого, на 8-е сутки жизни сохраняются снижение представительства в кровотоке тромбоцитов, снижение тромбокрита, увеличение среднего размера тромбоцитов и ширины распределения тромбоцитов. На 18-е сутки наблюдения со стороны показателей периферического отдела эритрона изменений не зафиксировано, сохраняются снижение количества тромбоцитов, тромбокрита, увеличение среднего размера тромбоцитов и ширины распределения тромбоцитов (табл. 2).

Таким образом, у НН от очень ранних и ранних преждевременных родов относительно группы доношенных на 1-е, 3-и, 8-е, 18-е сутки снижаются количество тромбоцитов, тромбокрита, увеличиваются средний размер тромбоцитов и ширина распределения тромбоцитов; на 8-е сутки жизни зафиксирована нормоцитарная, нормохромная анемия.

Снижение количества тромбоцитов в крови у НН свидетельствует о незрелости мегакариопоэза и/или тромбоцитопоэза и может служить фактором риска нарушений в системе первичного гемостаза, возникновения геморрагического синдрома [3]. Кроме этого, показана уязвимость неонатальных тромбоцитов в отношении активации р53-зависимого апоптоза: пятикратное увеличение по сравнению с тромбоцитами взрослых людей, что может приводить к сокращению срока жизни и ускоренной элиминации из кровотока тромбоцитов. Известно, что основным регулятором мегакариопоэза у новорожденных является тромбопоэтин, синтезируемый главным образом в печени. У новорожденных снижена способность синтезировать тромбопоэтин в ответ на тромбоцитопению. По мнению многих авторов, тромбоциты недоношенных новорожденных дисфункциональны – у них нарушены адгезивная, агрегационная способности, дегрануляция и иные функции по сравнению с доношенными детьми, что рассматривается не как дефект функции клеток, а как адаптационный механизм в условиях внутриутробного развития, препятствующий активации гемостаза при контакте с материнскими тканями. Убедительно продемонстрированы онтогенетические особенности неонатальных тромбоцитов на основе анализа их транскриптома [4].

Принимая во внимание широкий спектр функциональных возможностей тромбоцитов, в том числе регуляцию функций и кооперацию с иммунокомпетентными клетками, тромбоцитопения может привести к увеличению риска инфекционных осложнений, снижению эффектов вакцинации и другим неблагоприятным последствиям [5]. В частности, в тромбоцитах ген протромбоцитарного основного белка (PPBP) кодирует синтез тромбоцитарного фактора роста из семейства хемокинов CXС, который активирует нейтрофилы через рецептор CXCR2, а тромбоцитарный белок PF4 – опосредовано через потенцирование эффекта TNF-альфа. Показана роль тромбоцитов в регуляции функции Т-лимфоцитов, NK-клеток. Ряд авторов отмечают корреляцию между средним тромбоцитарным объемом, шириной распределения тромбоцитов по объему и риском развития у новорожденных респираторного дистресс-синдрома, некротического энтероколита, бронхолегочной дисплазии, внутрижелудочковых кровоизлияний, инфекционных, воспалительных и протромботических состояний [6].

Зафиксированные нами признаки нормохромной, нормоцитарной анемии у НН на 8-й день жизни являются отражением anemia of prematurity (AOP). Принято считать, что почти все доношенные новорожденные имеют анемию различной степени выраженности – анемию новорожденных. Для НН характерна более выраженная по степени тяжести анемия, чем у доношенных, концентрация гемоглобина может достигать значений 90 г/л и ниже.

Механизмы формирования АОР включают кровопотерю в результате забора крови для многочисленных лабораторных исследований (что особенно выражено в первые 2 недели жизни), нарушения эритропоэза и гемолиз в связи с короткой (40–60 суток) продолжительностью жизни [7]. Совокупные потери от забора крови у НН могут составить 32 мл/кг. Полагают, что дисэритропоэтический механизм является ведущим в патогенезе АОР в связи с низкой чувствительностью к гипоксии клеток – продуцентов ЭПО в почках и в печени, а также дефицитом железа, фолиевой кислоты, витамина В<sub>12</sub>, витамина Е. Нами у НН от очень ранних и ранних преждевременных родов на 8-е сутки жизни установлена прямая средней силы взаимосвязь между выраженностью анемии и гестационным возрастом: по количеству эритроцитов ( $R=0,54$ ;  $p<0,05$ ), концентрации гемоглобина ( $R=0,51$ ;  $p<0,05$ ), гематокриту ( $R=0,57$ ;  $p<0,05$ ). Другие исследователи также отмечают, что тяжесть анемии нарастает по мере снижения гестационного возраста.

Одним из факторов патогенеза АОР выступает дефицит железа [8]. Недостаток железа у НН обусловлен прежде всего тем, что его транспорт и аккумуляция в организме плода от матери происходят на 80% в третьем триместре беременности, когда увеличиваются концентрация ферритина, синтез гемоглобина и негемовых белков, а также за счет интенсивного роста тканей и потребления железа пролиферирующими клетками в послеродовом периоде в условиях сниженного энтерального поступления железа. Нами установлено, что у НН от очень ранних и ранних преждевременных родов во все сроки наблюдения концентрация ферритина в сыворотке снижается по сравнению с группой доношенных новорожденных (табл. 3, 4). На 1-е сутки концентрация ферритина по медиане снижается на 84%, на 3-и сутки – на 84%, на 8-е сутки – на 65%, на 18-е сутки – на 59%. Ферритин является ключевым маркером запасов железа в организме и более информативен, чем концентрация сывороточного железа, зависящая от наличия воспалительного процесса, стресса, гемолиза и иных факторов.

Дефицит количества, или эффектов, ЭПО – еще один важный механизм формирования АОР. Данные по концентрации сывороточного эритропоэтина у НН противоречивы. Нами установлено, что у НН по сравнению с группой доношенных новорожденных концентрация ЭПО в сыворотке статистически значимо возрастает на 1-е сутки жизни в 11 раз, на 3-и сутки – в 3,3 раза, на 8-е сутки – в 4,4 раза, на 18-е сутки – в 4,6 раза (табл. 3, 4). Показано, что период полувыведения эндогенного и экзогенного ЭПО из крови у НН значительно укорочен, поэтому для реализации эффектов уровень сывороточного ЭПО должен быть выше, как и доза вводимого с терапевтической целью ЭПО. Принято считать, что эритропоэтическая активность ЭПО пропорциональна гестационному возрасту [9]. Такие факторы, как воспаление (С-РБ, ИЛ-6, ИЛ-2, эластаза

плазмы), окислительный стресс и дефицит железа, существенно ограничивают эффекты ЭПО на предшественники эритроцитов в костном мозге [10,11]. В то же время ряд авторов относят ЭПО к белкам, подобным реактантам острой фазы, концентрация которого возрастает в критических ситуациях (у пациентов отделений интенсивной терапии) независимо от функционального состояния почек за счет активации гепатоцитов и клеток Купфера. В экспериментальных условиях установлено, что увеличение продукции ЭПО обусловлено эффектами ИЛ-6 на гепатоциты и повышением экспрессии гипоксия-индуцированного фактора – 1альфа [12].

Таблица 1

Гематологические показатели у НН (Ме (Q<sub>25</sub>-Q<sub>75</sub>))

Показатели	1-е сутки		3-и сутки	
	Группа 1 (n=22)	Группа 2а (n=10)	Группа 1 (n=22)	Группа 2а (n=10)
RBC, • 10 <sup>12</sup> /л	4,19 (3,52–4,52)	4,22 (4,21–4,87)	4,28 (3,34–4,53)	4,10 (3,60–4,27)
HGB, г/л	141,0 (120,0–164,0)	155,0 (155,0–176,0)	149,0 (113,0–155,0)	144,0 (128–164,0)
HCT, %	43,60 (36,10–49,60)	49,6 (46,4–53,5)	44,4 (35,9–46,3)	46,0 (38,8–47,7)
MCV, фл	106,3 (104,2–110,3)	110,9 (110,2–117,4)	106,3 (103,5–107,8)	108,3 (108,0–116,4)
MCH, пкг	34,10 (33,80–36,20)	36,8 (36,8–39,0)	34,0 (33,4–36,5)	35,7 (35,7–40,0)
MCHC, г/л	32,88 (32,40–33,20)	33,4 (33,2–33,7)	33,4 (32,2–34,3)	33,0 (33,0–33,9)
RDW, %	17,06 (15,90–18,00)	18,3 (18,3–18,5)	17,9 (16,1–19,1)	18,2 (18,2–18,6)
PLT, • 10 <sup>9</sup> /л	300 (256–321)	156 (136–185) *	295 (245–331)	168 (147–196) *
MPV, фл	7,10 (6,90–7,70)	7,70 (7,70–8,80)	7,30 (6,90–7,80)	7,80 (7,80–8,30) *
PCT, %	0,22 (0,19–0,24)	0,12 (0,11–0,15) *	0,22 (0,19–0,23)	0,13 (0,12–0,14) *
PDW, %	16,80 (16,80–16,90)	16,90 (16,5–16,9)	16,70 (16,5–17,0)	18,20 (18,2–18,60) *

Примечание. Здесь и далее \* – статистически значимые (p<0,05) различия с группой 1.

Таблица 2

Гематологические показатели у НН (Ме (Q<sub>25</sub>-Q<sub>75</sub>))

Показатели	8-е сутки		18-е сутки	
	Группа 1 (n=22)	Группа 2а (n=10)	Группа 1 (n=22)	Группа 2а (n=10)
RBC, • 10 <sup>12</sup> /л	4,05 (3,45–4,45)	3,20 (2,39–4,32) *	3,90 (3,22–4,26)	3,61 (3,57–4,11)
HGB, г/л	139,0 (113,0–145,0)	115,0 (85,0–134,0) *	128,0 (111,0–132,0)	120,0 (108,0–128,5)
HCT, %	41,90 (35,80–44,30)	28,90 (25,50–40,0) *	39,6 (34,0–39,8)	36,40 (32,50–39,15)
MCV, фл	103,2 (101,4–107,8)	103,5 (103,5–)	101,5 (98,4–102,8)	95,3 (90,8–98,2)

		107,8)		
MCH, пкг	33,6 (33,1–34,8)	35,8 (35,0–36,4)	34,2 (32,6–34,6)	30,20 (29,05–32,35)
MCHC, г/л	33,1 (32,1–33,6)	33,5 (33,1–34,6)	32,8 (32,1–33,3)	33,1 (30,6–33,3)
RDW, %	17,30 (15,00–18,30)	18,00 (17,30– 18,00)	16,60 (16,00–17,06)	19,25 (16,55–21,40)
PLT, • 10 <sup>9</sup> /л	562,0 (385,0–604,0)	191,0 (191,0–239,0) *	382,0 (337,0–530,0)	217,0 (123,0–604,0) *
MPV, фл	7,60 (7,40–8,00)	9,20 (9,20–9,40) *	7,80 (7,30–8,20)	9,30 (8,30–10,60) *
PCT, %	0,43 (0,29–0,48)	0,18 (0,16–0,28) *	0,37 (0,33–0,44)	0,21 (0,13–0,49) *
PDW, %	16,9 (16,6–17,1)	17,7 (17,3–17,7) *	16,5 (16,1–16,7)	17,3 (17,2–17,5) *

Таблица 3

Концентрация в сыворотке ферритина и ЭПО у НН (Ме (Q<sub>25</sub>-Q<sub>75</sub>))

Показатели	1-е сутки		3-и сутки	
	Группа 1 (n=22)	Группа 2а (n=10)	Группа 1 (n=22)	Группа 2а (n=10)
Ферритин, мкг/л	272,0 (167,0–391,0)	42,2 (34,20–116,0) *	281,0 (153,0–343,0)	45,5 (45,5–85,7) *
ЭПО, МЕ/л	3,53 (1,80–7,10)	38,50 (2,05–40,2) *	1,94 (1,00–3,44)	6,41 (2,50–16,40) *

Таблица 4

Концентрация в сыворотке ферритина и ЭПО у НН (Ме (Q<sub>25</sub>-Q<sub>75</sub>))

Показатели	8-е сутки		18-е сутки	
	Группа 1 (n=22)	Группа 2а (n=10)	Группа 1 (n=22)	Группа 2а (n=10)
Ферритин, мкг/л	414 (267–478)	144 (89–149) *	286 (212–386)	117 (35–224) *
ЭПО, МЕ/л	1,00 (1,00–1,07)	4,40 (2,46–4,79) *	1,00 (1,00–1,58)	4,66 (2,76–5,12) *

**Выводы**

1. У недоношенных новорожденных от очень ранних и ранних преждевременных родов на 8-е сутки жизни наблюдаются признаки анемии, нарастающие по мере снижения гестационного возраста, на 1-е, 3-и, 8-е, 18-е сутки жизни в крови снижаются количество тромбоцитов, тромбоцит, увеличиваются средний размер тромбоцитов и ширина распределения тромбоцитов по размеру.

2. У недоношенных новорожденных от очень ранних и ранних преждевременных родов на 1-е, 3-и, 8-е, 18-е сутки жизни в сыворотке снижается концентрация ферритина, повышается концентрация эритропоэтина.

### Список литературы

1. Blencowe H. National, regional and worldwide estimates of preterm birth / H. Blencowe, S. Cousens, M. Oestergaard et al. *The Lancet*. 2012. Vol. 379(9832). P. 2162–2172.
2. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014. 760 с.
3. Alicja W., Agnieszka P., Piotr L. et al. Platelet indices in late preterm newborns. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 2017. Vol. 30(14). P. 1699–1703.
4. Caparros-Perez E., Teruel-Montoya R., Lopez-Andreo J. et al. Comprehensive comparison of neonate and adult human platelet transcriptomes. *PLoS One*. 2017. Vol. 12(8). DOI: 10.1371/journal.pone.0183042.
5. Koenen RR. The prowess of platelets in immunity and inflammation. *Thromb. Haemost.* 2016. Vol. 116(4). P. 605–612.
6. Cekmez F., Tanju I.A., Canpolat F.E. et al. Mean platelet volume in very preterm infants: a predictor of morbidities? *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2013. Vol. 17. P. 134–137.
7. Hasanbegovic E., Cengic N., Hasanbegovic S. et al. Evaluation and Treatment of Anemia in Premature Infants. *Med Arch.* 2016. Vol. 70(6). P. 408–412.
8. Yamada R.T., Leone C.R. Hematological and iron content evolution in exclusively breastfed late-preterm newborns. *Clinics (Sao Paulo)*. 2014. Vol. 69(12). P. 792–798.
9. Ramadori P., Ahmad G., Ramadori G. Cellular and molecular mechanisms regulating the hepatic erythropoietin expression during acute-phase response: a role for IL-6. *Lab. Invest.* 2010. Vol. 90(9). P. 1306–1324.
10. Осиков М.В., Ахматов К.В., Кривохижина Л.В., Ахматов В.Ю. Анализ гематологических эффектов эритропоэтина у больных хронической почечной недостаточностью, находящихся на диализе // *Человек. Спорт. Медицина*. 2009. № 20 (153). С. 79–82.
11. Осиков М.В., Телешева Л.Ф., Агеев Ю.И., Черепанов Д.А., Федосов А.А. Патофизиологические аспекты изменения и коррекции врожденного иммунитета при хронической почечной недостаточности // *Современные проблемы науки и образования*. – 2013. – № 5. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=7450> (дата обращения: 08.08.2018).



12. Saleh M.I., Nalbant D., Widness J.A., Veng-Pedersen P. Population pharmacodynamic analysis of erythropoiesis in preterm infants for determining the anemia treatment potential of erythropoietin. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2013. Vol. 304(9). P. R772–R781.