

Н.С. Якушенко

Функциональная активность эритроцитов у здоровых недоношенных новорожденных детей

Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д.О. Отта, Санкт-Петербург

Резюме. Показано, что у здоровых недоношенных новорожденных детей имеется низкая функциональная активность эритроцитов вследствие свободно-радикального повреждения клеток, а также наличия у них большого числа ядерных предшественников. Снижение деформационных и транспортных свойств эритроцитов приводит к нарушению микроциркуляции и является причиной ишемических повреждений сердечной мышцы, мозговых и других структур, а также ухудшению вентиляционно-перфузионных отношений. Поэтому комплексная оценка функциональной активности эритроцитов может быть использована для диагностики нарушений реологических свойств крови и своевременной их коррекции.

Ключевые слова: эритроциты, функциональная активность, новорожденные дети, гемолиз, деформируемость, микроциркуляция.

Введение. Высокая частота перинатальной патологии у недоношенных детей в значительной мере связана с особенностями постнатальной перестройки гемодинамики, в частности, с состоянием микроциркуляции легких, сердца, надпочечников. Известно, что эффективность микроциркуляторного кровотока в значительной мере зависит от функционального состояния эритроцитов, ухудшение которого, особенно при наличии низких градиентов артериального давления у новорожденных, может вести к выраженным изменениям гомеостаза, нарушению вентиляционно-перфузионных отношений в легких и возникновению тканевой гипоксии. [1, 4, 13] Поэтому характеристика функционального состояния эритроцитов может служить критерием оценки их транспортной функции, что важно для своевременной адекватной терапии при наличии перинатальной патологии.

Цель исследования. Выяснить особенности функционального состояния эритроцитов у здоровых недоношенных новорожденных детей, имеющих гестационный возраст 34–36 недель.

Материалы и методы. Обследовано 54 здоровых новорожденных ребенка. Основную (I) группу составили 14 здоровых недоношенных детей, гестационный возраст которых 34–36 недель. Масса тела детей – $2374,0 \pm 6,2$ г, рост – $45,8 \pm 0,2$ см. Оценка по шкале Апгар при рождении равна 8 баллам. Максимальная убыль массы тела на 3–4 день жизни составила <6%, её восстановление произошло к 7 дню. В контрольную (II) группу вошли 40 здоровых доношенных новорожденных детей, гестационный возраст которых ≥ 37 нед. Масса тела – 3420 ± 112 г, рост – $51,2 \pm 0,5$ см. Оценка по шкале Апгар равна 8–9 баллам. Максимальная убыль массы тела на 2–3 день жизни <4,5%, её восстановле-

ние наблюдалось к 5–7 дню. В зависимости от способа рождения дети каждой группы были разделены на подгруппы. Ia (n=5) и IIa (n=25) – дети, родившиеся естественным путем, Ib (n=9) и IIb (n=15) – дети, извлеченные путем кесарева сечения.

Для оценки функционального состояния эритроцитов использовали метод малоуглового светорассеяния, который основан на свойствах эритроцитов увеличивать свой объем и гемолизировать при помещении в аммонийную среду (140 mM NH₄Cl, 5 mM KCl, 5 mM HEPES, 5 mM глюкозы, 1 mM CaCl₂) [2]. Регистрацию эритроцитов осуществляли с помощью лазерного анализатора «Ласка» производства «БиоМедСистем» (Санкт-Петербург). Эритрограмма отражает скорость изменения процесса гемолиза и позволяет количественно характеризовать кинетику процесса следующими параметрами: МСГ – максимальная скорость гемолиза, ВМС – время достижения максимальной скорости гемолиза и процент ГЭ – гемолизированных эритроцитов. Забор капиллярной крови в количестве 50 мкл у новорожденных детей осуществляли в период от 6 до 12 ч после рождения и повторно на 4-й день жизни.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием методов непараметрической статистики. Вычисляли среднюю арифметическую величину (M), среднее квадратичное отклонение (σ) и среднюю ошибку средней величины (m). Достоверность различий между средними величинами параметров определяли с помощью критерия U-Вилкоксона – Манна – Уитни и критерия Вилкоксона. Корреляционный анализ проводили с использованием критерия Спирмена. Обработку материала выполняли с использованием пакета программ статистического анализа: Statistica for Windows v.6,0. Критический уро-

вень достоверности нулевой статистической гипотезы принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение. Показано, что у недоношенных детей в первый день жизни количество подвергшихся гемолизу эритроцитов, скорость и время его достижения не имели различий у родившихся естественным путем (Ia) и извлеченных с помощью кесарева сечения (Iб): соответственно процент ГЭ – 39,76±1,41 и 39,33±0,73 (p>0,05); МСГ – 0,040±0,004 и 0,036±0,003 mVc (p>0,05); ВМС – 4,23±0,16 и 4,6±0,9 с (p>0,05). Полученные данные у недоношенных детей были объединены в одну группу и сопоставлялись с таковыми у доношенных новорожденных. У последних количество подвергшихся гемолизу эритроцитов, скорость и время его достижения имели существенные различия в зависимости от способа родоразрешения. У родившихся естественным путем наблюдалось большее количество эритроцитов, подвергшихся гемолизу, больше была скорость процесса и меньшее время достижения гемолиза: соответственно процент ГЭ – 68,12±0,87 и 62,65±0,77 (p<0,05); МСГ – 1,17±0,01 и 0,138±0,005 mVc (p<0,05); ВМС – 1,12±0,01 и 1,15±0,02с (p<0,05).

Показатели эритрограммы у недоношенных и доношенных детей в 1-й и 4-й дни жизни представлены в таблице 1, из которой видно, что у недоношенных детей как в 1-й день жизни, так и на 4 сутки, по сравнению с доношенными, наблюдаются более низкое количество эритроцитов, подвергшихся гемолизу и более длительное время его достижения. Кроме того,

у недоношенных детей отсутствует увеличение этих показателей к 4 суткам, тогда как у доношенных детей процент ГЭ и МСГ возрастают, а ВМС уменьшается.

Известно, что функциональная активность эритроцитов во многом определяется качественными и количественными характеристиками клеток [3, 8]. Показатели красной крови у новорожденных детей в 1-й день жизни представлены в таблице 2.

Видно, что у недоношенных детей больше объем эритроцита и низкая степень насыщения гемоглобином в сравнении с доношенными детьми. К 4 дню жизни более низкий уровень насыщения гемоглобином сохраняется. Корреляционные связи между количеством эритроцитов, подвергшихся гемолизу и показателями красной крови у недоношенных детей отсутствуют, тогда как у доношенных детей процент ГЭ тем выше, чем ниже общее количество эритроцитов (r= -0,6; p<0,01), Ht (r= -0,6; p<0,05), но больше средний объем эритроцитов (r=0,5; p<0,01) и среднее содержание гемоглобина (r=0,5; p<0,05). Уменьшение процента ГЭ наблюдается при снижении рН крови (r=0,7; p<0,01).

Известно, что при помещении клеток в изотоническую среду, в которой ионы натрия заменены ионами аммония, гемолиз эритроцитов проходит в условиях, когда клетки быстро набухают и достигают критического размера, то есть наблюдается та же картина, что и при осмотическом гемолизе (некротическое увеличение объема). Пусковым механизмом этого процесса является активация Cl⁻/OH⁻ обменника (белок полосы 3), которая происходит в результате защелачивания внутриклеточного рН. Поскольку при этом клеточная мембрана разрушается этот тип гибели определяется как некроз, что по сути своей является эквивалентом процесса, обозначаемого в клинической и лабораторной практике термином гемолиз. Данный показатель является косвенным свидетельством хороших деформационных свойств эритроцитов, а значит оптимальных возможностей для становления микроциркуляции в малом круге кровообращения и вентиляционно-перфузионных отношений. Количество подвергшихся гемолизу эритроцитов в нашем исследовании у недоношенных детей было низким. При этом почти 2/3 популяции эритроцитов не подверглась гемолизу. Это можно связать с количественной и качественной неравнозначностью эритроцитов у недоношенных детей [10, 12], а также с наличием у них большого числа ядерных предшественников эритроцитов и имеющих

Таблица 1

Показатели эритрограммы у новорожденных различного гестационного возраста в 1 и 4 дни жизни

День жизни	Группа	Процент ГЭ	МСГ mVc	ВМС с
1	I	39,49±0,66	0,040±0,004	4,23±0,16
	IIa	68,12±0,87**	1,17±0,01**	1,12±0,01**
	IIб	62,65±0,77*	0,138±0,005*	1,15±0,02*
4	I	41,55±0,67	0,04±0,02	3,92±0,05
	IIa	70,53±0,24**	0,198±0,005**	0,15±0,03**
	IIб	65,07±0,75**	0,158±0,004**	1,11±0,007**

Примечание: * – различия между показателями недоношенных и доношенных детей в 1 и 4 дни жизни, p<0,05; ** – p<0,01.

Таблица 2

Показатели красной крови у новорожденных различного гестационного возраста в 1 день жизни

Группа	Э, ×10 ⁶ /mm ³	Ht, %	Hb, г/л	MCV, μm ³	MCH, pg	MCHC, g/dl
I	5,6±0,3	58,3±3,6	199,2±122	107,4±1,5	36,1±0,5	33,5±0,3
IIa	5,81±0,13	58,5±0,8	202,0±5,6	102,84±0,45*	35,51±0,16	35,39±0,19*
IIб	6,11±0,77	60,6±0,81	206,6±5,6*	100,2±0,62**	35,38±0,24	35,22±0,29*

Примечание: * – различия между показателями недоношенных и доношенных детей, p<0,05; ** – p<0,01.

структурные особенности молодых клеток [8, 9, 11]. Качественные особенности состава гемоглобина в значительной мере определяют эти различия [16]. Возможно увеличение в первые часы и дни жизни числа эритроцитов – клеток в предапоптотном состоянии в связи с оксидативным стрессом, связанным с переходом новорожденного в новые условия окружающей среды. Известно, что недоношенные дети в большей степени подвержены окислительному стрессу. Так, показано, что у них в эритроцитах снижено содержания антиоксидантных ферментов и восстановленного глутатиона. [5, 7, 14]. Перекисное окисление мембранных белков и липидов в эритроцитах недоношенных детей ведет к снижению уровня макроэргов, способствует выключению ионных насосов, накоплению в клетках Ca^{2+} и развитию апоптоза [6, 15]. В результате этого нарушаются свойства эритроцитов, что существенно затрудняет постнатальную адаптацию.

Заключение. Комплексная оценка функциональной активности эритроцитов может быть использована для диагностики реологических свойств крови и своевременной их коррекции.

Литература

1. Иванов, К.П. Успехи и спорные вопросы в изучении микроциркуляции / К.П. Иванов // Физиолог. журн. им. И.М. Сеченова. – 1995. – Т. 81, № 5. – С. 48–51.
2. Миндукшев, И.В. Нарушение деформационных и транспортных характеристик эритроцитов при развитии у них апоптоза / Миндукшев И.В. [и др.] // Биол. мембраны. – 2010. – Т. 27, № 1. – С. 1–11.
3. Baskurt, O.K. Blood rheology and hemodynamics / O.K. Baskurt, H.J. Meiselman // Semin. Thromb. hemost. – 2003. – Vol. 29, № 5. – P. 435–450.
4. Betticher, D.C. Effect of RBC shape and deformability on pulmonary O_2 diffusing capacity and resistance to flow in rabbit lungs / D.C. Betticher, W.H. Reinhart, J. Geiser // J. appl. physiol. – 1995. – Vol. 78, № 3. – P. 778–783.
5. Bonta, V.W. Neonatal red cell superoxide dismutase enzyme levels: possible role as a cellular defense mechanism against pulmonary oxygen toxicity / V.W. Bonta, E.R. Gawron, J.B. Warshaw // Pediatr. res. – 1977. – Vol. 11, № 6. – P. 754–757.
6. Bracci, R. Red blood cell involvement in fetal/ neonatal hypoxia / R. Bracci, S. Perrone, G. Buonocore // Biol. neonate. – 2002. – Vol. 79, № 3–4. – P. 210–212.
7. Jain, A. Glutathione metabolism in newborns: evidence for glutathione deficiency in plasma, bronphocytes in prematures / A. Jain [et al.] // Pediatr. pulmonol. – 1995. – Vol. 20, № 3. – P. 160–166.
8. Linderkamp, O. Erythrocyte deformability in the fetus, preterm, and term neonate / O. Linderkamp [et al.] // Pediatr. res. – 1986. – Vol. 20. – № 1. – С. 93–96.
9. Maconi, M. Reticulocyte count and reticulocyte maturation profile in human umbilical cord blood from healthy newborns / M. Maconi [et al.] // Lab. hematol. – 2010. – Vol. 16, № 1. – P. 3–7.
10. Matovcik, L.M. The aging process of human neonatal erythrocytes / L.M. Matovcik [et al.] // Pediatr. res. – 1986. – Vol. 20, № 11. – P. 1091–1096.
11. Mohandas, N. Cell membrane and volume changes during red cell development and aging / N. Mohandas, W. Groner // Ann. N.Y. Acad. sci. – 1989. – Vol. 554. – P. 217–224.
12. N.I. Noguera Uematologic study of newborn umbilical cord blood / N.I. Noguera [et al.] // Medicina (B Aries). – 1999. – Vol. 59, № 5. – P. 446–448.
13. Schmid-Schoenbein, H. Blood rheology and oxygen transport to tissues / H. Schmid-Schoenbein / Adv. physiol. sci. – 1982. – Vol. 25. – P. 209–219.
14. Thibeault, D.W. The precarious antioxidant defenses of the preterm infant / D.W. Thibeault // Am. j. perinatol. – 2000. – Vol. 17, № 4. – P. 167–181.
15. Vlachos, D.G. Maternal-neonatal erythrocyte membrane Na⁺/K⁺-ATPase and Mg²⁺-ATPase activities in relation to mode of delivery / D.G. Vlachos [et al.] // Scand. j. clin. lab. invest. – 2008. – Vol. 103, № 5. – P. 501–508.
16. Zipursky, A. Hematology of the newborn / A. Zipursky // In: Neonatal medicine. MASSON Publishing USA. – 1987. – P. 681–717.

N.S. Yakuchenko

Functional activity of red blood cells in healthy preterm infants

Abstract. It is shown that healthy premature newborn children have a low functional activity of red blood cells owing to free radical damage of cells, and also to existence of large number of nuclear predecessors. Decrease in deformation and transport properties of erythrocytes leads to violation of microcirculation and is at the bottom of ischemic damages of a cardiac muscle, brain and other structures, and also to deterioration of ventilation-perfusion the relations. Therefore the complex assessment of functional activity of erythrocytes can be used for diagnostics of violations of rheological properties of blood and their timely correction.

Key words: red blood cells, functional activity, newborn infants, hemolysis, deformability, microcirculation.

Контактный телефон: 8-960-255-42-72; e-mail: Natella-lek@rambler.ru