

## ВЛИЯНИЕ ЭРИТРОПОЭТИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ РАННИХ ПРЕЖДЕВРЕМЕННЫХ РОДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИСТЕМЫ CYTODIFF

Осиков М. В., Альмухаметова О. Н., Квятковская С. В.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, Челябинск, Россия

Цель работы – исследовать влияние эритропоэтина (ЭПО) на показатели клеточного иммунитета у недоношенных новорожденных (НН) от ранних преждевременных родов (РПР). Исследование выполнено на 15 доношенных новорожденных и 25 НН от РПР (гестационный возраст 28 недель – 30 недель и 6 дней). ЭПО применяли с 6 суток жизни в дозе 200 МЕ/кг с интервалом в 48 ч. Количество субпопуляций лейкоцитов в крови определяли методом проточной цитометрии с антителами системы «CytoDiff». Установлено, что у НН от РПР на 8 и 18 сутки жизни снижается предстательство в крови В-лимфоцитов, Т-хелперов, Т- и НК-клеток; на 8 сутки жизни увеличивается количество моноцитов и их предшественников, снижается количество эозинофилов; на 18 сутки – снижается количество моноцитов, зрелых нейтрофилов, увеличивается количество базофилов, предшественников В- и Т-лимфоцитов. Применение ЭПО приводит на 8 сутки жизни к увеличению в крови общего количества лимфоцитов за счет Т- и НК-клеток, количества незрелых гранулоцитов; на 18 сутки – к увеличению общего количества лимфоцитов за счет В-лимфоцитов, Т-хелперов, Т- и НК-клеток, увеличению количества зрелых нейтрофилов, незрелых гранулоцитов, предшественников моноцитов.

*Ключевые слова:* эритропоэтин, недоношенные новорожденные, иммунный статус

Иммунная система у недоношенных новорожденных (НН) несет черты функциональной незрелости, что, с одной стороны, является основой фето-плацентарной толерантности, с другой – ослабляет антимикробный ответ и вносит вклад в неонатальную заболеваемость и смертность от инфекционных заболеваний. Понимание онтогенеза иммунной системы, механизмов реализации врожденного и адаптивного иммунитета у НН позволит разрабатывать эффективные и совершенствовать имеющиеся диагностические, профилактические, терапевтические стратегии. Показана обратная зависимость между гестационным возрастом (ГВ) и повышенной чувствительностью к микробным патогенам у НН. В этой связи группу риска составляют НН от ранних преждевременных родов (РПР) (ГВ 28 недель – 30 недель и 6 дней). Однако, исследование иммунного статуса у НН ограничивает возможность забора достаточного

объема крови. Эритропоэтин (ЭПО), один из самых успешных препаратов за весь период использования технологий рекомбинантной ДНК, в последние годы продемонстрировал плеiotропные, в том числе иммунотропные, эффекты при разной патологии [1, 2]. Установлены у НН нейропротекторные эффекты ЭПО, связь между концентрацией ЭПО в крови и маркерами системного воспалительного ответа.

**Цель работы** – исследовать влияние ЭПО на показатели клеточного иммунитета у НН от РПР.

**Используемые методы.** Проведено краткосрочное, открытое, проспективное исследование иммунного статуса у 40 новорожденных в родильном доме Клиники ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава. Группа контроля (группа 1) (n=15) – доношенные новорожденные (ДН), ГВ 37 недель и старше, группа 2 (n=25) – НН от РПР. Для исследования эффектов ЭПО на иммунный статус в дозах, рекомендуемых для

коррекции анемии у НН, II группа разделена на подгруппу а (n=15) – НН от РПР и стандартным лечением и подгруппу б (n=10) – НН от РПР, где кроме стандартного лечения с 6 суток жизни применяли ЭПО («Эпокрин», ГНИИ ОЧБ, Санкт-Петербург) в дозе 200 МЕ/кг с интервалом в 48 ч. Центральную венозную кровь в объеме 600 мкл забирали из пупочного катетера или глубокой венозной линии на 8 и 18 сутки жизни. Количество субпопуляции лейкоцитов в крови определяли методом проточной цитометрии с антителами системы «Cyto-Diff» («Beckman Coulter», США): комбинация 6 маркеров и 5 красителей: CD36-FITC/CD2-PE/CRTH2-PE/CD19-ECD/CD16-Cy5/CD45-Cy7 с дифференцировкой В-лимфоцитов, Т- и NK-клеток (CD16<sup>-</sup> и CD16<sup>+</sup>), моноцитов (CD16<sup>-</sup> и CD16<sup>+</sup>), незрелых гранулоцитов, эозинофилов, базофилов, зрелых нейтрофилов, незрелых Т- и В-лимфоцитов. Общее количество лейкоцитов определяли на гематологическом анализаторе «Act Diff» («Beckman Coulter», США). Статистическая обработка результатов проведена с использованием программы Statistica v.10.0.

**Основные результаты.** У НН от РПР на 8 сутки жизни в крови снижается общее количество лимфоцитов ( $2,45 \times 10^9/\text{л}$  (1,89-2,89); у ДН  $5,45 \times 10^9/\text{л}$  (4,4-5,97);  $p < 0,01$ ) за счет снижения представительства В-лимфоцитов ( $0,43 \times 10^9/\text{л}$  (0,21-0,68); у ДН  $0,65 \times 10^9/\text{л}$  (0,47-0,81);  $p < 0,01$ );  $p < 0,01$ ), Т-лимфоцитов ( $1,69 \times 10^9/\text{л}$  (1,07-3,44); у ДН  $3,44 \times 10^9/\text{л}$  (3,09-5,55);  $p < 0,01$ ), Т-хелперов ( $1,21 \times 10^9/\text{л}$  (0,87-2,37); у ДН  $2,69 \times 10^9/\text{л}$  (2,39-3,88);  $p < 0,01$ ), Т- и NK-клеток, последних за счет Т- и NK-клеток CD16<sup>-</sup> ( $2,00 \times 10^9/\text{л}$  (1,79-2,69); у ДН  $4,59 \times 10^9/\text{л}$  (3,28-4,84);  $p < 0,01$ ). Кроме этого, на 8 сутки у НН от РПР снижается количество в крови эозинофилов, увеличивается количество моноцитов CD16<sup>+</sup> ( $0,35 \times 10^9/\text{л}$  (0,29-0,46); у ДН  $0,14 \times 10^9/\text{л}$  (0,08-0,18);  $p < 0,01$ ), увеличивается количество клеток-предшественников за счет предшественников моноцитов ( $0,032 \times 10^9/\text{л}$  (0,028-0,064); у ДН  $0,001 \times 10^9/\text{л}$  (0,001-0,004);  $p < 0,01$ ). На 18 сутки жизни у НН от РПР сохраняется снижение общего количества лимфоцитов в крови за счет В-лимфоцитов ( $0,23 \times 10^9/\text{л}$  (0,23-0,81); у ДН  $0,72 \times 10^9/\text{л}$  (0,67-0,81);  $p < 0,01$ ), Т-лимфоцитов ( $1,03 \times 10^9/\text{л}$  (1,03-2,18); у ДН  $4,41 \times 10^9/\text{л}$  (3,99-5,04);  $p < 0,01$ ), Т-хелперов ( $0,65 \times 10^9/\text{л}$  (0,65-1,69); у ДН  $3,62 \times 10^9/\text{л}$  (3,25-3,87);  $p < 0,01$ ), Т- и NK-клеток, последних преимущественно

за счет Т- и NK-клеток CD16<sup>+</sup> ( $0(0-0,27)$ ; у ДН  $0,38 \times 10^9/\text{л}$  (0,19-0,97);  $p < 0,01$ ), снижается общее количество моноцитов, но увеличивается представительство моноцитов CD16<sup>+</sup>, снижается количество нейтрофилов за счет зрелых форм ( $1,25 \times 10^9/\text{л}$  (0,29-1,41); у ДН  $2,11 \times 10^9/\text{л}$  (1,48-2,38);  $p < 0,01$ ). На 18-е сутки у НН от РПР в крови увеличивается количество базофилов, количество предшественников лейкоцитов ( $4,26 \times 10^9/\text{л}$  (0,16-4,82); у ДН  $0,12 \times 10^9/\text{л}$  (0,08-0,17);  $p < 0,01$ ) за счет предшественников В-лимфоцитов ( $3,696 \times 10^9/\text{л}$  (0,105-4,187); у ДН  $0,013 \times 10^9/\text{л}$  (0,011-0,034);  $p < 0,01$ ) и Т-лимфоцитов ( $0,442 \times 10^9/\text{л}$  (0,027-0,501); у ДН  $0,038 \times 10^9/\text{л}$  (0,035-0,040);  $p < 0,01$ ).

Применение ЭПО у НН от РПР на 8 сутки (суммарная доза введенного ЭПО 200 МЕ/кг) приводит к увеличению в крови общего количества лимфоцитов ( $4,16 \times 10^9/\text{л}$  (3,66-9,78);  $p < 0,01$ ) за счет Т- и NK-клеток ( $3,83 \times 10^9/\text{л}$  (2,99-9,78); в контроле  $2,11 \times 10^9/\text{л}$  (1,89-2,89);  $p < 0,01$ ), увеличению незрелых гранулоцитов ( $0,39 \times 10^9/\text{л}$  (0,07-0,44); в контроле  $0,03 \times 10^9/\text{л}$  (0,1-0,54);  $p < 0,01$ ) и предшественников лейкоцитов неустановленного типа. На 18 сутки (суммарная доза введенного ЭПО 1200 МЕ/кг) наблюдается увеличение в крови общего количества лимфоцитов за счет В-лимфоцитов ( $0,57 \times 10^9/\text{л}$  (0,47-0,75);  $p < 0,01$ ), Т-лимфоцитов ( $2,85 \times 10^9/\text{л}$  (2,18-6,28);  $p < 0,01$ ), в том числе Т-хэлперов ( $1,77 \times 10^9/\text{л}$  (1,69-3,84);  $p < 0,01$ ), Т- и NK-клеток CD16<sup>-</sup>, Т- и NK-клеток CD16<sup>+</sup> ( $0,28 \times 10^9/\text{л}$  (0,22-0,29);  $p < 0,01$ ), увеличивается количество нейтрофилов ( $2,76 \times 10^9/\text{л}$  (2,00-4,29); в контроле  $1,33 \times 10^9/\text{л}$  (1,33-1,41);  $p < 0,01$ ) за счет зрелых форм ( $1,99 \times 10^9/\text{л}$  (0,92-2,59); в контроле  $1,25 \times 10^9/\text{л}$  (0,29-1,41);  $p < 0,01$ ). На этом фоне в крови снижается количество эозинофилов, базофилов, предшественников лейкоцитов. Примечательно, что при снижении общего количества предшественников лейкоцитов, а также предшественников В-лимфоцитов, наблюдается увеличение количества незрелых гранулоцитов ( $0,75 \times 10^9/\text{л}$  (0,35-1,71); в контроле  $0(0-1,04)$ ;  $p < 0,01$ ) и предшественников моноцитов.

#### **Выводы:**

1. У НН от РПР изменения клеточного иммунитета включают на 8 и 18 сутки жизни снижение представительства в крови В-лимфоцитов, Т-хелперов и общего количества Т-лимфоцитов, Т- и NK-клеток; на 8 сутки жизни увеличивается количество в крови моноци-

тов и их предшественников, снижается количество эозинофилов; на 18 сутки – снижается количество моноцитов, зрелых нейтрофилов, увеличивается количество базофилов и предшественников В- и Т-лимфоцитов.

2. Применение у НН от РПП с 6 суток жизни ЭПО дозе 200 МЕ/кг с интервалом в 48 ч приводит на 8 сутки жизни к увеличению в крови общего количества лимфоцитов за счет Т- и НК-клеток, количества незрелых гранулоцитов; на 18 сутки жизни – к увеличению в крови общего количества лимфоцитов за счет В-лимфоцитов, Т-хелперов, Т- и НК-клеток, увеличению количества зрелых нейтрофилов, незрелых грануло-

цитов и предшественников моноцитов, снижению предшественников В-лимфоцитов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Осиков М. В., Ахматов К. В., Кривожижина Л. В. Патофизиологический анализ влияния эритропоэтина на психологический статус у больных хронической почечной недостаточностью, находящихся на гемодиализе. *Человек. Спорт. Медицина*. 2010, 19 (195), 110-116.
2. Осиков М. В., Ахматов В. Ю., Телешева Л. Ф., Федосов А. А., Агеев Ю. И., Суровяткина Л. Г. Плейотропные эффекты эритропоэтина при яФундаментальные исследования. 2013, 7-1, 218-224.

### EFFECT OF ERYTHROPOIETIN ON PARAMETERS OF CELLULAR IMMUNITY IN PRETERM INFANTS OF EARLY PRETERM BIRTH USING THE SYSTEM CYTODIFF

Osikov M. V., Almukhametova O. N., Kvyatkovskaya S. V.

*South Ural State Medical University, Russian Ministry of Health,  
Chelyabinsk, Russia*

Aim of the study: to investigate the effect of erythropoietin (EPO) on the parameters of cellular immunity in preterm infants (PI) of early preterm birth (EPB). The study was performed on 15 full-term infants and 25 PI from EPB (gestational age 28 weeks – 30 weeks and 6 days). EPO was applied 6 days of life at a dose of 200 IU/kg every 48 h. Number of subpopulations of leukocytes in blood was determined by flow cytometry with antibodies of system "CytoDiff". It was found that PI from EPB at 8 and 18 days of life reduced the representation in blood of B-lymphocytes, T-helper cells, T – and NK-cells; on the 8th day of life increases the number of monocytes and their precursors decreases the number of eosinophils; 18 day – reduced the number of monocytes, mature neutrophils, increases the number of mast cells, precursors of B-and T-lymphocytes. The use of EPO leads on the 8 days of life to increase in blood the total number of lymphocytes due to T – and NK-cells, the number of immature granulocytes; 18 day – to increase the total number of lymphocytes at the expense of B-lymphocytes, T-helper cells, T – and NK-cells, increasing the number of mature neutrophils, immature granulocytes, the precursors of monocytes.

*Key words:* erythropoietin, premature infants, immune status