

4. И.А. Иванов, Б.Л. Цивьян, Д.А. Вологжанин, С.В.Варданян, М.А.Орбели, А.Н. Репетун, Е.Г.Виленская, А.В.Плотицына, Т.Г.Предтеченская, А.М. Ефремов, Н.Н. Хромов-Борисов / Цитокины макрофагального звена при эндометриозе // Цитокины и воспаление. 2013. Т. 12. № 1–2. С. 88–93
5. Кудрина Е.А. Современные подходы к патогенезу, диагностике и лечению генитального эндометриоза: Дис. д-ра мед. наук. – М., 1999. –280 с.
6. Кудрина Е.А., Ищенко А.И., Гадаева И.В. и др. Молекулярно-биологические характеристики наружного генитального эндометриоза // Акуш. и гин. – 2000.– № 6. – С. 24-27.
7. Овсянникова Т.В., Ардус Ф.А. Диагностика и лечение бесплодия, обусловленного генитальным эндометриозом// Рос. вестн. акуш.-гин. – 2008. – Т. 8, № 4. – С. 98–100.
8. Сидорова И.С., Никитина Н.А. Особенности патогенеза эндотелиоза при преэклампсии // Акушерство и гинекология. – 2015. – №1. – С.74-76.
9. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA.М.: Медиасфера. Реброва О.Ю. 2003. 312 с.
10. Fife MS, Gutierrez A, Ogilvie EM, Stock CJ, Samuel JM, Thomson W, Mack LF, Lewis CM, Woo P. Novel IL10 gene family associations with systemic juvenile idiopathic arthritis. Arthritis Res Ther. 2006;8(5):R148.

#### References

1. Adamjan L.V., Kulakov V.I., Andreeva E.N. Jendometriozy. M.: Medicina, 2006. – 416 s.
2. Baskakov V.P., Cvelev Ju.V., Kira E.F. Jendometrioidnaja bolezn'. – Spb.: OOO «Izdatel'stvo N.L.», 2002. – 452 s.
3. Damirov M. M. Genital'nyj jendometrioz. Vzgljad praktikujushhego vracha. –2013. S.9-11 .
4. I.A. Ivanov, B.L. Civ'jan, D.A. Vologzhanin, S.V.Vardanjjan, M.A.Orbeli, A.N. Repetun, E.G.Vilenskaja, A.V.Ploticyna, T.G.Predtechenskaja, A.M. Efremov, N.N. Hromov-Borisov / Citokiny makrofagal'nogo zvena pri jendometrioze // Citokiny i vospalenie. 2013. T. 12. № 1–2. S. 88–93.
5. Kudrina E.A. Sovremennye podhody k patogenezu, diagnostike i lecheniju genital'nogo jendometrioz: Dis. d-ra med. nauk. – М., 1999. –280 s.
6. Kudrina E.A., Ishhenko A.I., Gadaeva I.V. i dr. Molekuljarno-biologicheskie harakteristiki naruzhnogo genital'nogo jendometrioz // Akush. i gin. – 2000.– № 6. – С. 24-27.
7. Ovsvjannikova T.V., Ardus F.A. Diagnostika i lechenie besplodija, obuslovlennogo genital'nym jendometriozom// Ros. vestn. akush.-gin. – 2008. – Т. 8, № 4. – С. 98–100.
8. Sidorova I.S., Nikitina N.A. Osobennosti patogeneza jendotelioza pri prejeklampsii // Akusherstvo i ginekologija. – 2015. – №1. – S.74-76.
9. Statisticheskij analiz medicinskih dannyh. Primenenie paketa prikladnyh program STATISTICA.М.: Mediasfera. Rebrova O.Ju. 2003. 312 s.
10. Fife MS, Gutierrez A, Ogilvie EM, Stock CJ, Samuel JM, Thomson W, Mack LF, Lewis CM, Woo P. Novel IL10 gene family associations with systemic juvenile idiopathic arthritis. Arthritis Res Ther. 2006;8(5):R148.

#### Белкин А.М.<sup>1</sup>, Ялонетский И.З.<sup>2</sup>, Абражевич Т.Г.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Студент, 5 курс, педиатрический факультет, Белорусский Государственный Медицинский Университет, г. Минск; <sup>2</sup>ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии, Белорусский Государственный Медицинский Университет, г. Минск;

<sup>3</sup>врач-неонатолог, заведующая отделением неонатологии, УЗ «6-я городская клиническая больница г.Минска», г.Минск

#### ДЕФОРМИРУЕМОСТЬ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ И ЕЕ ИЗМЕНЕНИЕ У НОВОРОЖДЕННЫХ, ПЕРЕНЕСШИХ ВНУТРИУТРОБНУЮ ГИПОКСИЮ И ИНФЕКЦИИ

#### Аннотация

*В ходе проведенной работы была изучена деформируемость мембран эритроцитов новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию и инфекции и влияние на нее цитофлавина. Было установлено, что у детей обеих групп имеется снижение деформируемости эритроцитарной мембраны, обусловленное сходными механизмами альтерации клеток. Инкубация эритроцитов с цитофлавином не только способствовала восстановлению мембранных свойств эритроцитов, но и их улучшению. Полученные результаты указывают на целесообразность использования определения индекса деформируемости эритроцитов в качестве дополнительного критерия оценки тяжести состояния новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию и инфекции, и наталкивают на мысль о возможности использования цитофлавина в неонатальной практике, особенно у пациентов перенесших внутриутробную гипоксию с целью более быстрого восстановления метаболизма и мембран клеток. Однако данный вопрос нуждается в дальнейшем изучении.*

**Ключевые слова:** деформируемость мембран эритроцитов, внутриутробная гипоксия, внутриутробная инфекция, цитофлавин, метаболизм эритроцитов.

#### Belkin A.M.<sup>1</sup>, Yalonetsky I.Z.<sup>2</sup>, Abrazhevich T.G.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Student, 5th year, the pediatric faculty, Belarusian State Medical University, Minsk; <sup>2</sup>assistant of the Department of Anesthesiology and Intensive Care, Belarusian State Medical University, Minsk; <sup>3</sup>neonatologists, Head of the Division of Neonatology, UT "The 6th Municipal Clinical Hospital of Minsk", Minsk.

#### DEFORMABILITY ERYTHROCYTE MEMBRANES AND ITS CHANGES IN NEWBORNS AFTER INTRAUTERINE HYPOXIA AND INFECTIONS

#### Abstract

*In the course of this work it was studied the deformability of erythrocyte membranes of newborns undergoing intrauterine hypoxia and infections and the influence of cytoflavin. It was found that children in both groups there is a decrease deformability of erythrocyte membrane due to similar mechanisms of alteration of cells. Incubation of erythrocytes with cytoflavin not only contributed to the restoration of membrane properties of red blood cells, but also to improve them. The results indicate the usefulness of the index of deformability of red blood cells as an additional criterion for assessing the severity of newborns undergoing intrauterine hypoxia and infections, and suggests the idea of the possibility of using cytoflavin in neonatal practice, especially in patients undergoing intrauterine hypoxia for a more rapid recovery and metabolism cell membranes. However, this issue needs further study.*

**Keywords:** deformability of erythrocyte membranes, intrauterine hypoxia, intrauterine infection, cytoflavin, metabolism of red blood cells.

Среди многих факторов, повреждающих органы и системы новорожденных, особо следует выделить гипоксию, которая может быть отнесена к универсальным повреждающим агентам. Гипоксия в 20-50% случаев является причиной перинатальной смертности, в 59% - причиной мертворождений, в 72,4% - одна из главных причин гибели плода в родах или раннем неонатальном периоде [1,2]. При гипоксии возникает срыв механизмов компенсации гемодинамики, функции коры надпочечников, брадикардия, снижение минутного кровообращения. Изменение системной гемодинамики, централизации кровообращения, активации

анаэробного гликолиза с накоплением лактата способствует развитию метаболического ацидоза, который в свою очередь способствует активации плазменных протеаз, провоспалительных факторов, что ведет к повреждению клеточных мембран [3].

При внутриутробных инфекциях возбудитель вызывает воспалительные процессы. Воспаление, в зависимости от срока, на котором произошло инфицирование в большей или меньшей степени проявляется альтеративным, пролиферативным и сосудистым компонентами, что и является пусковым механизмом для каскада биохимических реакций, ведущих к изменению метаболических свойств тканей и клеток организма [1].

Изменение в структуре и функциях мембран клеток организма в настоящее время рассматриваются как одно из основных универсальных звеньев в патогенезе различных заболеваний. В клиническом практике наиболее доступным материалом для исследования являющиеся клетки крови – эритроциты, которые благодаря доступности и высокой чувствительности к изменениям, происходящим в организме, представляют собой удобный объект для оценки физиологического состояния организма [4,5].

Нормализация клеточного метаболизма и стабилизация клеточной мембраны является важной целевой задачей проводимой интенсивной терапии у пациентов находящихся в критическом состоянии. По заявлению производителей цитофлавина значительно улучшает клеточный метаболизм (в особенности положительно влияет на метаболизм клеток головного мозга, что в нашем случае имеет особое значение, поскольку при внутриутробных гипоксиях первым органом, страдающим от недостатка кислорода является мозг) [6]. Однако в литературе имеется недостаточно данных о применении цитофлавина в неонатальной практике и это лекарственное средство, успешно применяемое у взрослых пациентов, не входит в протоколы интенсивной терапии у детей неонатального периода жизни.

Объективной характеристикой свойств эритроцитарной мембраны является индекс деформируемости эритроцитов (ИДЭ). ИДЭ является одной из наиболее лабильных характеристик, которая чувствительно реагирует на изменения практически любого метаболического процесса в эритроцитах. Она отражает способность эритроцитов выполнять кислородтранспортную функцию крови. Ухудшение деформируемости эритроцитов коррелирует с нарушением процессов утилизации кислорода в организме [5,7].

Цель исследования: изучение мембранных свойств эритроцитов у новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию и инфекции, и оценка возможности позитивного влияния на них цитофлавина.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе кафедры анестезиологии и реаниматологии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» и отделения неонатологии учреждения здравоохранения «6-я ГКБ г.Минска». В исследование вошли результаты обследования 49 новорожденных, которые были рандомизированы и распределены по трем клиническим группам. Группа I – здоровые новорожденные (n=20); II - перенесшие внутриутробную гипоксию (n=11); III - перенесшие внутриутробную инфекцию (n=18).

Критериями для включения новорожденных в исследование являлись:

- наличие внутриутробной патологии (гипоксия или внутриутробная инфекция);
- оценка при рождении по шкале Апгар в пределах 6-9 баллов;
- возраст новорожденного не более одних суток;
- вес 2000 – 4000 г.

Критериями, по которым дети исключались из исследования:

- оценка при рождении по шкале Апгар менее 6 баллов;
- необходимость в проведении искусственной вентиляции легких;
- масса тела менее 2000г.

У всех пациентов проводился забор венозной крови в объеме 2 мл, из этих проб крови мы получали отмыемые эритроциты (ОЭ) путем трехкратного промывания физиологическим раствором (0,9% раствор натрия хлорида) в соотношении 2:1 и центрифугирования в течение 10 минут при 1500 оборотов в мин. с отделением эритроцитов от физиологического раствора путем его забора пипеткой-дозатором до начала уровня осажденных на дно пробирки эритроцитов. Способность мембран эритроцитов к деформации оценивалась на основании (ИДЭ), который определялся по методу З.Д. Федорова (1986г.) [8,9]. После определения исходного ИДЭ проводилась инкубация проб полученных ОЭ с цитофлавином. Цитофлавин для инкубации разводился с 0,9% раствором натрия хлорида в отношении 1:1000 соответственно. После разведения взвесь ОЭ в растворе цитофлавина перемешивалась и помещалась в термостат при температуре 37,0<sup>0</sup>С на 25 минут. По завершении инкубации из содержимого пробирки получали взвесь ОЭ, у которых определялся ИДЭ. Полученные результаты были проанализированы и обработаны с помощью пакета прикладных программ «Statistika 10» и представлены в таблице 1 в виде медианы, 25-ого и 75-ого квартиля.

Статистически значимыми различиями был принят уровень  $p < 0,05$  при попарном сравнении между группами (U-тест Манна-Уитни) или между этапами (тест Вилкоксона).

Таблица 1 – ИДЭ до и после инкубации с цитофлавином у различных групп новорожденных

Клиническая группа	ИИДЭ до инкубации с цитофлавином (Ме[CD])	ИИДЭ после инкубации с цитофлавином (Ме[CD])	Изменение ИИДЭ (%)
Здоровые дети (n=20)	2,36 [2,32; 2,42]	2,43 [2,33; 2,51]	+2,44% W=3,01; p<0,0026
Дети, перенесшие внутриутробную гипоксию (n=11)	1,87 [1,79; 1,95]	2,29 [2,26; 2,26]	+16,4% W=2,93; p<0,0033
Дети, перенесшие внутриутробные инфекции (n=18)	1,79 [1,95; 2,1]	2,26 [2,26; 2,33]	+11,34% W=3,72; p<0,0002

В результате проведенного исследования мы получили следующие показатели исходного уровня ИДЭ у новорожденных по исследуемым группам: в I-й группе – 2,36±0,09, во II-й группе – 1,87±0,17, в III-ей группе – 1,79±0,03. При статистическом анализе полученных данных было установлено, что статистически достоверная разница между II-й и III-й группами отсутствует. Однако, имеющиеся различия в парах, между I-й и II-й ( $\Delta Me=0,6$  [0,56; 0,81]; U=24; p=0,00009), а так же между I-й и III-й ( $\Delta Me=0,43$  [0,39; 0,48]; U=0,00; p=0,00000) группами оказались статистически значимыми.

После инкубации с цитофлавином нами были выявлены следующие изменения ИДЭ: в первой группе ИДЭ был увеличен со значения 2,36±0,09 до 2,42±0,1 (увеличение составило 2,44%); во II – с 1,87±0,17 до 2,29±0,19 (16,4%); в III – с 1,79±0,03 до 2,26±0,03 (11,34%), что свидетельствует об увеличении способности эритроцитов всех исследуемых групп к деформации, а значит улучшению мембранных свойств после инкубации с цитофлавином. Эти данные наглядно представлены на рисунке 1.

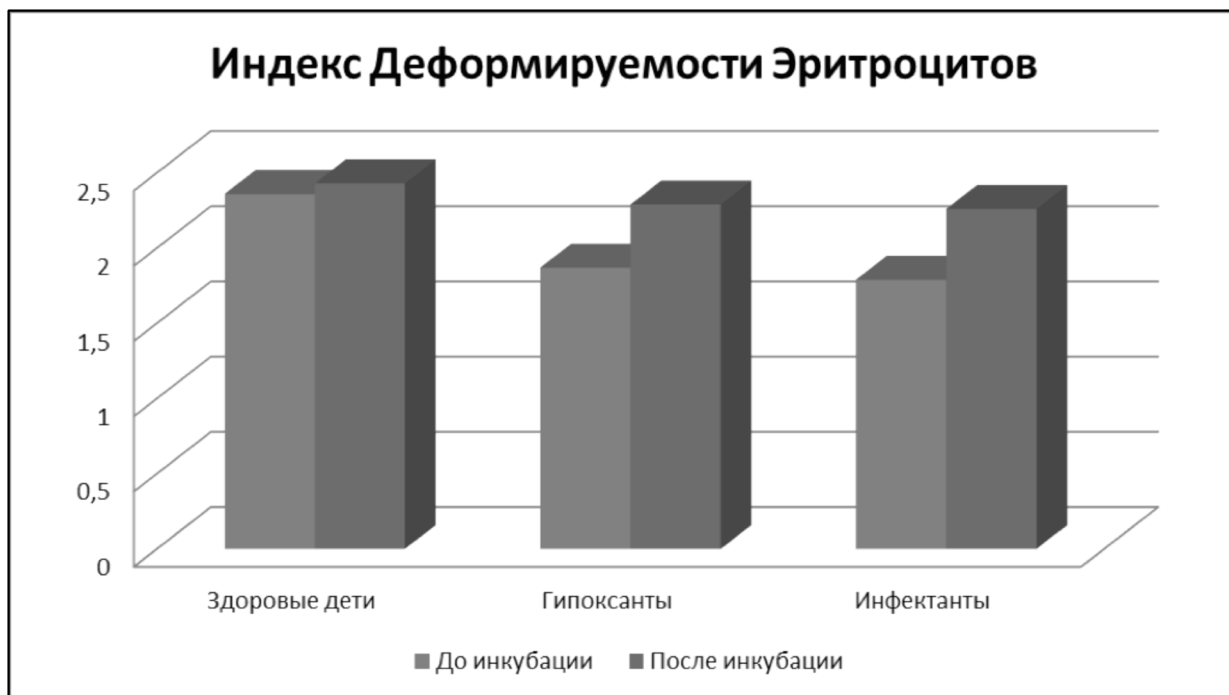


Рис. 1 – Динамика ИДЭ до и после инкубации с цитофлавином у различных групп новорожденных

Для визуализации состояния мембран эритроцитов нами была выполнена серия снимков микроскопических препаратов взвеси эритроцитов новорожденных, окрашенных по Романовскому-Гимзе до и после их инкубации с цитофлавином под иммерсионным микроскопом с увеличением 10x1000 и разрешающей способности фотокамеры 8,0 Мп. При микроскопии было выявлено, что морфология эритроцитов новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию и инфекцию, до инкубации с цитофлавином и после нее существенно отличаются. Наглядно это представлено на рисунках 2 и 3. На рисунке 3 представлены эритроциты после инкубации с цитофлавином. Они имеют четкий контур, правильную округлую форму, явления анизоцитоза менее выражены, в отличие от исходных эритроцитов, представленных на рисунке 2.

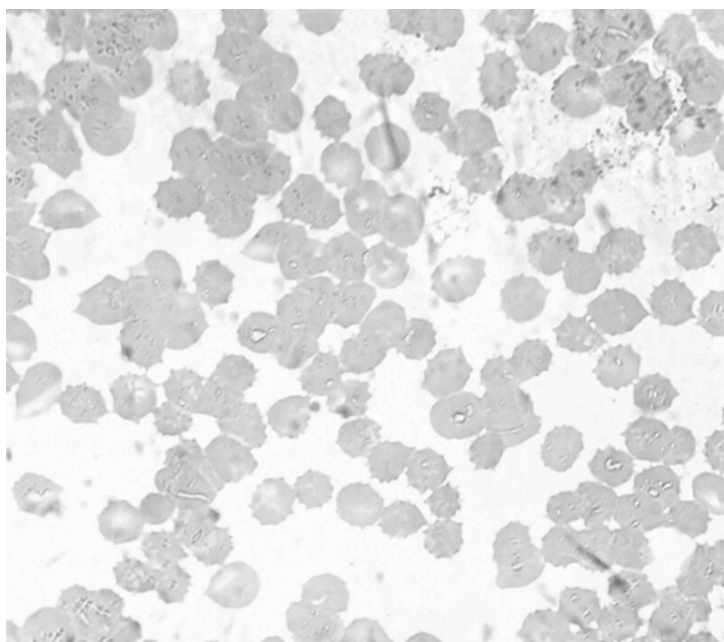


Рис. 2 – Эритроциты до инкубации с цитофлавином (увеличение 10x1000, разрешающая способность фотокамеры 8,0 Мп).

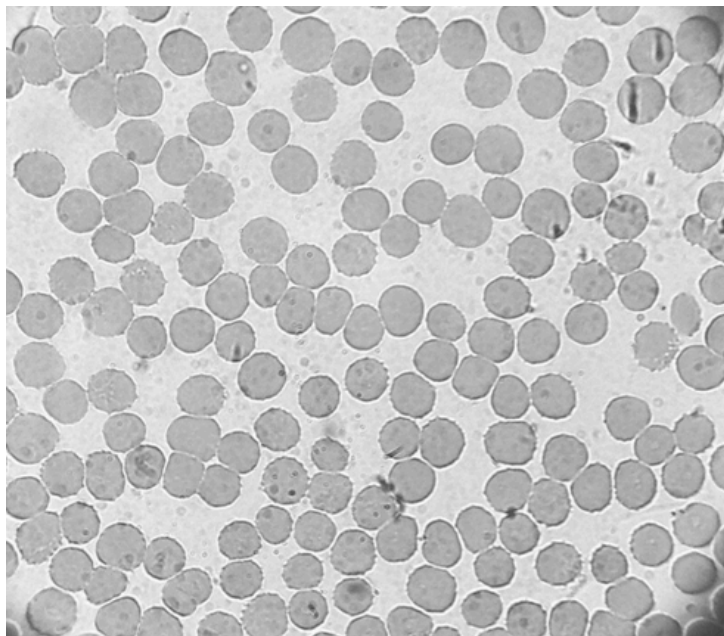


Рис. 3 – Эритроциты после инкубации с цитофлавином (увеличение 10х1000, разрешающая способности фотокамеры 8,0 Мп).

Данная визуальная картина является подтверждением прямого положительного влияния цитофлавина на морфологические, а, следовательно, и метаболические свойства эритроцитов.

В процессе работы мы изучили деформируемость мембран эритроцитов новорожденных, перенесших внутриутробные гипоксию и инфекцию, а так же влияние на их свойства цитофлавина. В результате исследования нами были сделаны следующие выводы:

1. Определение ИДЭ можно рекомендовать к использованию в качестве дополнительного критерия оценки тяжести состояния новорожденных.
2. У новорожденных, перенесших внутриутробную гипоксию или внутриутробную инфекцию, выявлено статистически значимое снижение деформируемости эритроцитарной мембраны, причем, у новорожденных, перенесших гипоксию, оно более выражено.
3. Отсутствие статистически значимой разницы ИДЭ между новорожденными, перенесшими внутриутробные гипоксию и инфекцию, может указывать на общность механизмов альтерации клеточных мембран, независимо от вида патологического процесса.
4. Инкубация эритроцитов с цитофлавином способствовала увеличению ИДЭ, особенно у новорожденных перенесших внутриутробную гипоксию.
5. Думается, что использование цитофлавина в неонатальной практике, особенно у пациентов перенесших внутриутробную гипоксию, будет способствовать более быстрому восстановлению метаболизма и мембран клеток. Однако данный вопрос нуждается в более детальном изучении.

#### Литература

1. Неонатология [Электронный ресурс]. – 2014. – Режим доступа: <http://www.neonatology.narod.ru/neonatology/infections.html>
2. Ткаченко, А. К. Асфиксия новорожденных. Перинатальная патология нервной системы // Учебно-методическое пособие. – 2006.
3. Галенок, В. А., Диккер, В. Е. Гипоксия и углеводный обмен // Новосибирск: Наука. – 1985. – С. 194.
4. Березовский, В. А., Сушко, Б. С. // Физиол. Журн. – 1984. – Т.30, № 3. – С. 345-353.
5. Зинчук, В. В. Значение деформируемости эритроцитов в организме // Медицинские новости. – 1998. – №4. – С. 14-16.
6. Piluli Медицина от а до я [Электронный ресурс] – 2015 – Режим доступа: <http://www.piluli.kharkov.ua/drugs/drug/cytoflavin/>
7. Северин, Е. С. // Биохимия: Учеб. Для вузов – 2008. – С. 657-664
8. Захарова, Н. Б., Целик, Н. И., Клячкин М. Л. // Лабораторное дело. – 1983. – № 8. – С. 3-6.
9. Бабихин, А. В. Сравнительная оценка различных методов восполнения кровопотери при эндопротезировании тазобедренного сустава // диссертация и автореферат. – 2010. – Хабаровск. – Режим доступа: <http://medical-diss.com/medicina/sravnitel'naya-otsenka-razlichnyh-metodov-vozpomeniya-krovopoteri-pri-endoprotezirovanii-tazobedrennogo-sustava>.

#### References

1. Neonatologija [Jelektronnyj resurs]. – 2014. – Rezhim dostupa: <http://www.neonatology.narod.ru/neonatology/infections.html>
2. Tkachenko, A. K. Asfiksija novorozhdennyh. Perinatal'naja patologija nervnoj sistemy // Uchebno-metodicheskoe posobie. – 2006.
3. Galenok, V. A., Dikker, V. E. Gipoksija i uglevodnyj obmen // Novosibirsk: Nauka. – 1985. – S. 194.
4. Berezovskij, V. A., Sushko, B. S. // Fiziol. Zhurn. – 1984. – T.30, № 3. – S. 345-353.
5. Zinchuk, V. V. Znachenie deformiruемости jeritroцитов v organizme // Medicinskie novosti. – 1998. – №4. – S. 14-16.
6. Piluli Medicina ot a do ja [Jelektronnyj resurs] – 2015 – Rezhim dostupa: <http://www.piluli.kharkov.ua/drugs/drug/cytoflavin/>
7. Severin, E. S. // Biohimija: Ucheb. Dlja vuzov – 2008. – S. 657-664
8. Zaharova, N. B., Celik, N. I., Kljachkin M. L. // Laboratornoe delo. – 1983. – № 8. – S. 3-6.
9. Babihin, A. V. Sravnitel'naja ocenka razlichnyh metodov vozpomenija krovopoteri pri jendoprotezirovanii tazobedrennogo sustava // dissertacija i avtoreferat. – 2010. – Habarovsk. – Rezhim dostupa: <http://medical-diss.com/medicina/sravnitel'naya-otsenka-razlichnyh-metodov-vozpomeniya-krovopoteri-pri-endoprotezirovanii-tazobedrennogo-sustava>.