

*На правах рукописи
Будалова*

Будалова Анастасия Владимировна

**КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ И
ПРОГНОЗА ГЕМОРРАГИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ГЛУБОКО
НEDОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ**

3.1.21. – Педиатрия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург–2023 г.

Работа выполнена на базе федерального государственного бюджетного учреждения «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Харламова Наталья Валерьевна

Официальные оппоненты:

Никитина Ирина Владимировна - доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра неонатологии, профессор; отделение реанимации и интенсивной терапии № 2 Института неонатологии и педиатрии, ведущий научный сотрудник.

Сахарова Елена Станиславовна - доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра госпитальной педиатрии №2 педиатрического факультета, профессор; обособленное структурное подразделение «Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю. Е. Вельтищева», отделение неонатологии и патологии детей раннего возраста, главный научный сотрудник.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное учреждение «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «11» декабря 2023 г. в 10.00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.062.2 (Д208.087.05) на базе ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России (194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, д.2).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России (194223, г. Санкт-Петербург, пр. Мориса Тореза, д. 39) и на сайте организации: <http://gpmu.org>

Автореферат разослан «___» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук, доцент

Тыртова Людмила Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Многочисленными исследованиями в области неонатологии показано, что течение раннего неонатального периода у глубоко недоношенных новорожденных сопровождается развитием многих патологических состояний, которые часто ассоциированы с изменениями со стороны системы гемостаза [Леонова Е.Ю., 2016; Monagle P., 2010], что способствует формированию геморрагических нарушений [Алиева Л.Б., 2011; Шабалов Н.П., 2000].

Особое место среди геморрагических нарушений занимают геморрагические поражения ЦНС [Киртбая А.Р., 2022], в структуре которых преобладают ВЖК [Иова А.С., 2020], которые часто приводят к развитию широкого спектра психоневрологических расстройств, а ВЖК III-IV нередко заканчиваются летальным исходом [Володин Н.Н., 2014; Заваденко Н.Н., 2016; Иванов Д.О., 2017]. Несмотря на совершенствование тактики бережного родоразрешения женщин при ранних преждевременных родах и тщательный подход к стабилизации состояния и выхаживанию глубоко недоношенных новорожденных, прогнозировать неблагоприятные исходы развития центральной нервной системы, по-прежнему, крайне сложно.

Поэтому, в настоящее время актуальным остается поиск новых предикторов формирования геморрагических нарушений, в том числе и ВЖК, у глубоко недоношенных новорожденных.

Степень разработанности темы

Механизмы формирования геморрагических нарушений у недоношенных новорожденных до конца не изучены, а данные многих исследований остаются спорными [Дорофеева Е.И., 2013]. В течение неонатального периода система гемостаза претерпевает количественные и качественные изменения, поэтому ее оценка с использованием возрастных референтных промежутков затруднена [Кольцова Е.М., 2018]. Большинство исследований последних лет посвящены изучению коагуляционного звена гемостаза, антикоагулянтной

системы крови и состоянию сосудистой стенки [Кузьменко Г.Н., 2009; Colman R.W., 2006]. Интерес исследователей все чаще направлен на изучение морфофункциональных свойств тромбоцитов и генов, контролирующих как сосудисто-тромбоцитарное, так и плазменное звенья системы гемостаза у новорожденных разного гестационного возраста [Баранов Д.А., 2014; Завьялов О.В., 2021].

В настоящее время литературные данные, посвященные изучению параметров тромбоцитов у глубоко недоношенных новорожденных с геморрагическими нарушениями, немногочисленны, а индексы тромбоцитов представлены описанием количества тромбоцитов, тромбокрита, среднего объема тромбоцитов и количества больших форм тромбоцитов [Wasiluk A., 2017; Малинова Л.И., 2017]. Внедрение в клиническую практику автоматических гематологических анализаторов позволяет широко изучать различные показатели крови [Иваненкова Ю.А., 2021], в том числе параметров тромбоцитов.

Интерес в исследовании полиморфизма генов в настоящее время в большей степени направлен на изучение связи полиморфизма генов с развитием тромботических осложнений [Белоусова Т.В., 2018]. Исследования, посвященные оценке полиморфизма генов, у глубоко недоношенных новорожденных с геморрагическими нарушениями в доступных источниках отсутствуют.

Цель: исследование морфофункциональных особенностей тромбоцитов и полиморфизма генов, контролирующих основные звенья системы гемостаза, у глубоко недоношенных новорожденных для прогнозирования геморрагических нарушений в раннем неонатальном периоде.

Задачи исследования

1. Уточнить факторы риска развития геморрагических нарушений, в том числе ВЖК, у глубоко недоношенных новорожденных.
2. Дать морфофункциональную характеристику тромбоцитов у глубоко недоношенных новорожденных в зависимости от гестационного возраста, массы тела при рождении, развития у них геморрагических нарушений.

3. Выявить особенности полиморфизма генов, контролирующих основные звенья системы гемостаза (*F2*, *F5*, *F7*, *F13A1*, *FGB*, *PAI-1*, *ITGA2-a2*, *ITGB3-b3*) у глубоко недоношенных новорожденных и установить их роль в формировании геморрагических нарушений, в том числе ВЖК.
4. Разработать способы прогнозирования развития геморрагических нарушений, в том числе ВЖК, у глубоко недоношенных новорожденных.

Научная новизна исследования

1. Впервые выявлены моррофункциональные особенности тромбоцитов у глубоко недоношенных новорожденных в зависимости от срока гестации, массы тела при рождении и наличия геморрагических нарушений, в том числе ВЖК.
2. Установлено прогностическое значение гранулярности тромбоцитов в формировании ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных.
3. Впервые у глубоко недоношенных новорожденных описаны полиморфизмы генов, контролирующих гемостаз; показано, что сочетанное присутствие в генотипе гетерозиготных вариантов генов *F2* 20210G/A и *F13A1* 103G/T повышают риск формирования геморрагических нарушений, а сочетанное присутствие в генотипе «негативных» аллелей генов *F13A1* 103T, *FGB* (-455)A, *PAI-1* (-675)4G, *ITGB3-b3* 1565C, *ITGA2-a2* 807T ассоциировано с повышенным риском развития ВЖК.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Уточнены факторы риска формирования геморрагических нарушений у глубоко недоношенных новорожденных, наиболее значимыми из которых являются: ИЦН (ОШ=3,94), ПОНРП (ОШ=3,23), развитие дистресса плода с изменением ЧСС (ОШ=2,96), проведение ИВЛ в родильном зале (ОШ=4,21), ЭНМТ (ОШ=3,25), использование дополнительного кислорода при стабилизации состояния в родильном зале (ОШ=3,03), потребность в введении экзогенного сурфактанта (ОШ=2,97), состояние крайней степени тяжести при рождении (ОШ=2,93). Уточнены факторы риска развития ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных: наличие ХВУГП (ОШ=2,31); отсутствие са-

мостоятельного дыхания при рождении ($\text{ОШ}=3,88$), проведение ИВЛ в родильном зале ($\text{ОШ}=2,61$) с более высокими значениями пикового давления.

2. Установлены референтные значения параметров тромбоцитов у доношенных новорожденных: PLT: $171,0 - 412,0 \times 10^3 \text{ кл}/\text{мкл}$, PCT: $0,17 - 0,30 \%$, MPV: $7,2 - 10,5 \text{ фл}$, PDW: $50,7 - 70,8 \%$, MPC: $23,3 - 27,7 \text{ г}/\text{дл}$, MPM: $1,79 - 2,26 \text{ г}/\text{дл}$, Large-Plt: $3,0 - 11,0 \times 10^3 \text{ кл}/\text{мкл}$.

3. Определены особенности параметров тромбоцитов у глубоко недоношенных новорожденных в зависимости от массы тела при рождении и от наличия геморрагических нарушений, в том числе ВЖК. Глубоко недоношенные новорожденные ЭНМТ в сравнении с детьми ОНМТ имеют в крови более высокие значения PLT ($p=0,04$), PCT ($p=0,04$), MPV ($p=0,01$), PDW ($p=0,03$) и Large-Plt ($p=0,03$). Глубоко недоношенные новорожденные ОНМТ в сравнении с новорожденными НМТ имеют более низкие значения PLT ($p=0,04$), PCT ($p=0,01$) и Large-Plt ($p=0,005$). У глубоко недоношенных новорожденных с геморрагическими нарушениями установлена меньшая концентрация PLT ($p=0,002$) и повышенное содержание тромбоцитов с большей MPC ($p=0,006$); при развитии ВЖК: меньшие показатели PCT ($p=0,004$) и повышенные параметры MPC ($p=0,002$).

4. Установлено, что присутствие в генотипе гетерозиготных вариантов генов *F2* 20210G/A и *F13A1* 103G/T у глубоко недоношенных новорожденных ассоциировано с развитием геморрагических нарушений, а сочетанное присутствие в генотипе «негативных» аллелей генов *F13A1* 103T, *FGB* (-455)A, *PAI-1* (-675)4G, *ITGB3-b3* 1565C, *ITGA2-a2* 807T увеличивает риск формирования ВЖК.

5. Разработан способ прогнозирования развития ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных с использованием значений средней концентрации компонентов тромбоцитов и общего кальция в сыворотке крови.

6. Разработана программа для ЭВМ «Прогнозирование риска развития тяжелых ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных (нейронная сеть)».

Методология и методы исследования

Методология настоящей работы построена на изучении и обобщении данных литературы о формировании геморрагических нарушений у глубоко недоношенных новорожденных, про- и ретроспективном анализе данных, полученных при обследовании 203 новорожденных детей. В зависимости от гестационного возраста и наличия геморрагических нарушений, регистрируемых в течение раннего неонatalного периода, новорожденные подразделены на группы. Первую группу (I) составили 58 детей сроком гестации до 32 недель, у которых в течение раннего неонatalного периода были зарегистрированы геморрагические нарушения. Вторая группа (II) сформирована из 74 детей сроком гестации до 32 недель, геморрагические проявления у которых отсутствовали. В группу контроля (III) вошли 42 здоровых доношенных новорожденных. Для оценки факторов риска и поиска возможностей прогнозирования тяжелых ВЖК, проведен дополнительный ретроспективный анализ данных историй развития 29 глубоко недоношенных новорожденных с ВЖК III–IV степени, родившихся с 2006 по 2021 гг.

У новорожденных I группы были зарегистрированы следующие геморрагические нарушения: ВЖК I-II степени - 72,5%; ВЖК III-IV степени - 1,7%; легочное кровотечение - 17,2%; желудочно-кишечное кровотечение - 17,2%; субарахноидальное кровоизлияние - 6,9%; гематома печени - 6,9%, другие кровоизлияния - 11,9%. У 21 ребенка имелись сочетанные варианты геморрагических нарушений.

Наблюдение за детьми, вошедшими в исследование, проводилось ежедневно, обследование и лечение детей проводилось согласно современным клиническим рекомендациям, проведена оценка данных из обменной карты беременной (форма №113/у) и истории родов (форма №096/у).

Исследование параметров тромбоцитов (PLT-концентрация тромбоцитов, $\times 10^3$ клеток/мкл, PCT-тромбокрит, %, MPV-средний объем тромбоцита, фл, PDW-ширина распределения тромбоцитов по объему, %, MPC-средняя

концентрация компонентов тромбоцита, г/дл, МРМ-средняя сухая масса тромбоцита, пг, Large-Plt-концентрация больших форм тромбоцитов $\times 10^3$ клеток/мкл), проводилось в возрасте 1–3 дней жизни на гематологическом анализаторе ADVIA 2120I (Siemens Healthcare Diagnostics Inc Tarrytown, NY, США) из 0,3 мл образца цельной венозной крови.

Генетическое исследование крови (*F2, F5, F7, F13A1, FGB, PAI-1, ITGA2-a2, ITGB3-b3*) проводилось на 1–28 сутки жизни при помощи метода ПЦР в режиме реального времени на автоматическом анализаторе «DTprim» («ДНК-технология», Россия) с использованием набора реагентов «Кардиогенетика. Тромбофилия» из 0,1 мл образца цельной венозной крови.

Статистическая обработка полученных данных выполнялась при помощи методов непараметрической статистики и прикладных программ: «Statistica 13.0», «Microsoft Excel 2017», системы OpenEpi. Осуществлялся расчет отношения шансов (ОШ) и доверительного интервала (ДИ) при уровне значимости 95%. Для проведения корреляционного анализа использовался критерий Спирмена. Для прогнозирования риска формирования ВЖК использовался метод дискриминантного анализа. Численные характеристики представлены в формате: Me [Q25%; Q75%]. Для тромбоцитарных индексов у доношенных новорожденных отдельно рассчитывались референтные интервалы в формате Me [Q2,5%; Q97,5%] в соответствии с требованиями ГОСТ Р 53022.3–2008.

Положения, выносимые на защиту

1. Геморрагические нарушения у глубоко недоношенных новорожденных имеют мультифакториальную природу, наиболее значимыми факторами риска их развития являются: ИЦН, ПОНРП, развитие дистресса плода с изменением ЧСС, проведение ИВЛ в родильном зале, ЭНМТ при рождении, использование дополнительного кислорода при стабилизации состояния в родильном зале, потребность в введении экзогенного сурфактанта, состояние крайней степени тяжести при рождении, что следует учитывать при формировании терапевтической стратегии у данной категории новорожденных.

2. У глубоко недоношенных новорожденных отмечаются более высокие значения MPV при более низких значениях MPC. Развитие геморрагических нарушений у глубоко недоношенных новорожденных сопровождается меньшей концентрацией тромбоцитов в крови (PLT) с большей MPC.
3. Морфофункциональными особенностями тромбоцитов у глубоко недоношенных новорожденных с ВЖК III–IV степени являются: меньшие значения PLT, более высокие значения PDW, MPC и Large-Plt.
4. Наследственная предрасположенность к развитию геморрагических нарушений у глубоко недоношенных новорожденных обусловлена сочетанным присутствием в генотипе «негативных» аллелей в генах протромбина, фибриногена, фибрин стабилизирующего фактора, антагониста тканевого активатора плазминогена и тромбоцитарных рецепторов к коллагену и фибриногену.

Степень достоверности и аprobация результатов

Степень достоверности результатов определяется репрезентативным числом наблюдений и выполненных исследований. Достоверность результатов исследования подтверждается актом проверки первичной документации от 22.12.2022г.

Результаты исследования представлены на многочисленных научно-практических конференциях, в том числе с международным участием. Теоретические положения и практические рекомендации диссертационной работы используются в учебном процессе кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии ФГБУ «Ивановский НИИ Мид им. В.Н. Городкова» Минздрава России. Результаты исследования внедрены в работу отделений реанимации и интенсивной терапии новорожденных и II этапа выхаживания недоношенных детей ФГБУ «Ивановский НИИ Мид им. В.Н. Городкова» Минздрава России.

По результатам диссертационной работы опубликовано 20 печатных работ, из них 5 – в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ, в том числе 3 статьи в журналах,

индексируемых в международных базах данных. Получен 1 патент на изобретение и 1 свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа изложена на 153 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 3 глав результатов собственного исследования, обсуждения полученных данных, выводов, практических рекомендаций, списка использованных сокращений и условных обозначений, списка литературы, включающего 70 отечественных и 73 иностранных источника. Работа иллюстрирована 45 таблицами, 20 рисунками.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Результаты исследования и их обсуждение

Наиболее часто течение раннего неонатального периода у глубоко недоношенных новорожденных I группы, вошедших в проспективное исследование, сопровождалось развитием ВЖК I-II степени – 72,4%, второе место занимали желудочно-кишечные и легочные кровотечения (по 17,2%), на третьем месте – гематома печени и САК (по 6,9%). ВЖК III-IV степени зарегистрированы у 1,7% обследованных детей. У 36,2% детей наблюдались сочетанные варианты геморрагических нарушений.

Анализируя течение настоящей беременности и родов, данные акушерско-гинекологического и соматического анамнеза матерей, установлено, что большинство новорождённых обеих групп внутриутробно развивались в неблагоприятных условиях. Течение беременности у матерей детей I группы чаще осложнялось развитием ИЦН ($OШ=3,94$ (ДИ 1,45–10,68), $p=0,01$). Частота родов через естественные родовые пути и путем операции кесарева сечения в группах новорожденных не различалась, что несколько противоречит некоторым исследований, в которых преждевременные роды через

естественные родовые пути выступают в качестве предиктора развития ВЖК [Hochart A., 2019; Szpecht D., 2016].

По данным нашего исследования беременность у женщин, родивших глубоко недоношенных новорожденных, развивших ВЖК в раннем неонатальном периоде, чаще осложнялась развитием ХВУГП (ОШ=2,31 (ДИ 0,81–6,59), $p=0,0001$). Роды у матерей детей с геморрагическими нарушениями чаще осложнялись дородовой кровопотерей при ПОНРП (ОШ=3,23 (ДИ 1,05–9,90), $p=0,03$), развитием дистресса плода с изменением ЧСС (ОШ=2,96 (ДИ 1,04–8,44), $p=0,03$) (рисунок 1).

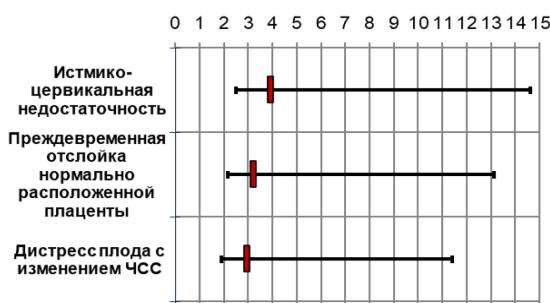


Рисунок 1 – Факторы риска формирования геморрагических нарушений у глубоко недоношенных новорожденных

Комплексная оценка состояния новорожденных при рождении и в раннем неонатальном периоде показала, что дети в исследуемых группах были сопоставимы по сроку гестации, но значимо различались по антропометрическим показателям. Глубоко недоношенные новорожденные I группы чаще рождались с ЭНМТ (ОШ=3,25 (ДИ 1,26–8,39), $p=0,01$).

Большинство детей обеих групп были рождены в состоянии асфиксии, при этом дети I группы имели при рождении более низкую оценку по шкале Апгар как в конце 1, так и в конце 5 минуты жизни ($p=0,006$ и $p=0,02$). Состояние крайней степени тяжести при рождении также чаще регистрировалось у детей I группы (ОШ=2,93 (ДИ 1,29–6,64), $p=0,009$) и было связано с отсутствием самостоятельного дыхания или наличием тяжелых дыхательных нарушений, обусловленных врожденной пневмонией или РДСН, о чем свидетельствует более высокая оценка по шкале Сильверман. Установлено, что при проведении реанимационных мероприятий и стабилизации состояния в

родильном зале новорожденным I группы чаще требовалось проведение ИВЛ (ОШ=4,21 (ДИ 1,80–9,83), $p=0,0005$), использование большей частоты принудительных вдохов при ИВЛ: 50,0 [40,0;60,0] в мин и 40,0 [40,0;50,0] в мин, ($p=0,024$), повышение концентрации кислорода в кислородно-воздушной смеси: 25,0 [21,0;40,0]% и 21,0 [21,0;25,0]%, ($p=0,017$) (ОШ–3,03, 95-ый% (ДИ 1,38–6,61), $p=0,004$). Использование 100% кислорода было зафиксировано только у детей I группы – 10,3%. Этой категории пациентов чаще требовалось введение экзогенного сурфактанта (ОШ–2,97, 95-ый% (ДИ 1,27–6,96), $p=0,01$). Всем глубоко недоношенным новорожденным, включенным в исследование, потребовалось продолжение респираторной терапии в условиях ОРИТН. При сравнении продолжительности СРАР и ИВЛ в ОРИТН не выявлено статистически значимых различий, однако, дети, у которых впоследствии были диагностированы геморрагические нарушения, требовали большей концентрации кислорода в кислородно-воздушной смеси: 30,0 [25,0;40,0] % и 21,0 [21,0;30,0] %, соответственно ($p=0,01$).

Уточнены факторы риска, способствующие формированию ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных: отсутствие самостоятельного дыхания при рождении (ОШ–3,88, 95-ый% (ДИ 0,98–18,450), $p=0,002$) и значимо большая потребность в проведении ИВЛ в родильном зале с более высокими значениями РИР: 20,0 [20,0;21,0] см Н₂O и 19,0 [18,0;20,0] см Н₂O, $p=0,04$.

Таким образом, наряду с факторами материнского анамнеза нами выделены факторы риска формирования геморрагических нарушений со стороны новорожденного (рисунок 2).



Рисунок 2 – Факторы риска формирования геморрагических нарушений в раннем неонатальном периоде

При анализе данных коагулограмм, выполненных в первые сутки жизни, у детей обеих групп выявлены отклонения в показателях, свидетельствующие о склонности детей к гипокоагуляции, что согласуется с результатами исследований, посвященных изучению состояния плазменного звена гемостаза у недоношенных новорожденных [Кузьменко Г.Н., 2013, Олс Р., 2013].

При использовании автоматического гематологического анализатора проведено исследование тромбоцитарных показателей у здоровых доношенных новорожденных, которые целесообразно использовать в качестве референтных значений (таблица 1).

Таблица 1 –Значения индексов тромбоцитов у здоровых доношенных новорожденных ($Me [Q2,5%; Q97,5%]$)

Показатель	Значения
PLT, 10^3 кл/мкл	260,0 [171,0; 412,0]
PCT, %	0,20 [0,17; 0,30]
MPV, фл	8,4 [7,2; 10,5]
PDW, %	62,1 [50,7; 70,8]
MPC, г/дл	25,5 [23,3; 27,7]
MPM, г/дл	1,93 [1,79; 2,26]
Large-Plt, 10^3 кл/мкл	6,0 [3,0; 11,0]

Установлены особенности тромбоцитарных параметров у глубоко недоношенных новорожденных в зависимости от массы тела при рождении и гестационного возраста (таблица 2, таблица 3).

Таблица 2 – Параметры тромбоцитов в общей группе глубоко недоношенных новорожденных в зависимости от массы тела при рождении

Показатели ($Me [Q25%; Q75%]$)	Группы обследованных детей			Достоверность различий, р
	ЭНМТ (n=35)	ОНМТ (n=65)	НМТ (n=32)	
	1	2	3	
PLT, $\times 10^3$ кл/мкл	259,5 [167,5;313,5]	219,0 [167,0;251,0]	261,0 [237,0;302,0]	$p_{1-2}=0,04$ $p_{2-3}=0,04$
PCT, %	0,26 [0,15;0,30]	0,18 [0,15;0,21]	0,24 [0,22;0,30]	$p_{1-2}=0,04$ $p_{2-3}=0,01$

MPV, фл	9,9 [9,4;10,9]	8,8 [8,6;9,2]	10,0 [8,7;10,4]	p ₁₋₂ =0,01
PDW, %	67,9 [63,4;75,5]	61,2 [58,7;64,4]	64,5 [63,5;70,9]	P ₁₋₂ =0,03
MPC, г/дл	24,3 [23,8;24,7]	24,3 [23,2;25,4]	24,9 [20,6;25,3]	p>0,05
MPM, пг	2,08 [2,03;2,12]	1,97 [1,90;2,07]	1,97 [1,94;2,05]	p>0,05
Large-Plt, ×10 ³ кл/мкл	9,5 [7,0;14,0]	6,0 [5,0;7,0]	8,0 [8,0;10,0]	P ₁₋₂ =0,03 P ₂₋₃ =0,005

Таблица 3 – Параметры тромбоцитов у новорожденных в зависимости от гестационного возраста

Показатели (Me [Q25%; Q75%])	Гестационный возраст обследованных новорожденных		Достоверн ость различий, p
	24-31 неделя (n=132)	≥37 недель (n=42)	
PLT×10 ³ клеток/мкл	236,0 [177,0;273,0]	260,0 [197,0;289,0]	p>0,05
PCT, %	0,20 [0,16;0,25]	0,20 [0,17;0,24]	p>0,05
MPV, фл	9,2 [8,7;10,3]	8,4 [7,8;8,9]	p=0,0003
PDW, %	63,3 [59,8;67,0]	62,1 [58,3;64,2]	p>0,05
MPC, г/дл	24,3 [23,2;25,4]	25,5 [23,9;26,1]	p=0,006
MPM, пг	1,99 [1,91;2,10]	1,93 [1,89;2,05]	p>0,05
Large-Plt, ×10 ³ клеток/мкл	7,0 [5,0;9,0]	6,0 [5,0;8,0]	p>0,05

Полученные результаты параметров тромбоцитов сопоставимы с данными ряда авторов [Christensen R.D., 2006; Hovgesen N.T., 2022], однако для гематологического анализатора ADVIA 2120I особенности тромбоцитов, в частности, MPC и MPM, у глубоко недоношенных новорожденных выявлены впервые.

Оценивая параметры тромбоцитов у детей I группы, отмечены статистически значимо меньшие значения PLT (222,0 [165,0;252,0] ×10³

клеток/мкл) по сравнению со II группой ($238,5 [213,5;291,0] \times 10^3$ клеток/мкл) ($p=0,002$), а также повышенное содержание тромбоцитов с большей MPC ($25,3 [24,3;25,8]$ г/дл и $23,6 [22,6;24,8]$ г/дл, соответственно, $p=0,006$).

Корреляционный анализ установил: положительную связь массы и длины тела при рождении и PLT ($r=0,33$, $p=0,002$; $r=0,28$, $p=0,013$, соответственно), отрицательную связь между массой и длиной тела и показателем МРМ ($r=-0,46$, $p=0,00002$; $r=-0,35$, $p=0,0025$, соответственно), отрицательную связь массы тела при рождении с PDW ($r=-0,26$, $p=0,023$), что свидетельствует о выраженным разнообразии объемов циркулирующих тромбоцитов у глубоко недоношенных новорожденных. Установлена положительная корреляционная связь оценки по шкале Апгар в конце первой минуты жизни и MPC ($r=0,25$, $p=0,028$); по - видимому, при тяжелой асфиксии нарушаются процессы гранулярности тромбоцитов, что приводит их к снижению функциональной активности и способствует развитию геморрагических нарушений. Установлена отрицательная корреляционная связь концентрации O_2 в кислородно-воздушной смеси при проведении респираторной терапии в родильном зале и PLT ($r=-0,26$; $p=0,019$). Следовательно, большие концентрации O_2 , используемые при проведении респираторной терапии, по-видимому, способствуют замедлению тромбоцитопоэза.

Таким образом морфофункциональное состояние тромбоцитарного звена гемостаза зависит от данных антропометрии, срока гестации, наличия тяжелой асфиксии при рождении, использования дополнительного кислорода при проведении респираторной терапии.

Оценка данных электролитного состава сыворотки крови показала, что новорожденные с геморрагическими нарушениями, в том числе и ВЖК, имели более высокую концентрацию общего кальция $2,2 [2,1;2,4]$ ммоль/л по сравнению с данными во II группе - $2,0 [1,7;2,2]$ ммоль/л ($p=0,008$). Согласно данным Gelman B. (1996), кальций содержится в плотной системе канальцев тромбоцитов и высвобождается в цитоплазму после их активации. Более высокий уровень концентрации внеклеточного кальция может быть связан с на-

рушением процесса его захвата тромбоцитом, что согласно Salzman E.W. (1989 г.) приводит к снижению уровня внутриклеточного кальция, от содержания которого напрямую зависит процесс дегрануляции и, следовательно, активации тромбоцита с последующим запуском каскада реакций свертывающей системы крови [Ignjatovic V., 2011]. Этот факт, вероятно, имеет значение для формирования геморрагических нарушений у глубоко недоношенных новорожденных. На основании полученных данных предложен «Способ прогнозирования внутрижелудочных кровоизлияний у глубоко недоношенных новорожденных» (патент № 2778301).

ВЖК III-IV степени являются наиболее значимой проблемой неонатологии, ввиду формирования неблагоприятных исходов, как для жизни, так и для здоровья глубоко недоношенных пациентов. Поэтому выявление факторов риска их формирования является важной задачей. По результатам нашего исследования наиболее значимые факторы риска формирования ВЖК III- IV степени: ЭНМТ (ОШ–10,5, 95-ый% (ДИ 3,13–35,2), p=0,00005), крайне тяжелое состояние при рождении (ОШ–28,29, 95-ый% (ДИ 6,54–122,4), p=0,000000), проведение ИВЛ в родильном зале (ОШ–15,7, 95-ый% (ДИ 4,36–56,67), p=0,00005), наличие врожденной пневмонии (ОШ–8,29, 95-ый% (ДИ 2,46–27,98), p=0,0003), дородовая кровопотеря, связанная с ПОНРП или предлежанием плаценты (ОШ–31,11, 95-ый% (ДИ 6,06–159,76), p=0,000001). При анализе индексов тромбоцитов у детей, сформировавших ВЖК III-IV степени, по сравнению детьми без ВЖК, установлены: более низкие значения PLT: 199,0 [188,0;249,0] ×10³ клеток/мкл и 260,5 [229,0;289,0] ×10³ клеток/мкл (p=0,002) и более высокие значения MPC: 25,3 [24,3;25,9] г/дл и 22,4 [21,5;23,6] г/дл (p=0,000000), более высокие значения PDW: 73,4 [64,3;76,4] % и 60,5 [54,2;62,3] % (p=0,000004) и Large-Plt: 9,0 [6,0;13,0] ×10³ клеток/мкл и 6,0 [5,0;7,0] ×10³ клеток/мкл, соответственно, p=0,0003. На основании представленных данных разработана и внедрена в работу ОРИТН программа для ЭВМ «Прогнозирование риска развития тяжелых внутрижелудочных кровоизлияний у глубоко

недоношенных новорожденных (нейронная сеть)» (свидетельство о регистрации № 2022664020)

С целью поиска новых предикторов развития геморрагических нарушений проведено исследование полиморфизма генов контролирующих основные звенья системы гемостаза. Анализ генотипов детей показал статистически значимое увеличение частоты сочетанного присутствия в генотипе «негативных» аллелей генов *F2* 20210, *F13A1* 103 *FGB* (-455), *PAI-1* (-675), *ITGB3-b3* 1565, *ITGA2-a2* 807 у глубоко недоношенных новорожденных, развивших геморрагические нарушения, в том числе ВЖК (таблица 4, таблица 5).

Таблица 4 – Сравнительный анализ сочетаний генотипических частот в генах, контролирующих систему гемостаза у глубоко недоношенных новорожденных с геморрагическими нарушениями

Аллель и генотип	ОШ (95-ый % ДИ)	Достоверность различий, р
<i>F2</i> 20210G/A, <i>F13A1</i> 103G/T	4,899 (1,0-46,342)	0,04

Таблица 5 – Сравнительный анализ сочетаний генотипических частот в генах, контролирующих систему гемостаза у глубоко недоношенных новорожденных с ВЖК

Аллель и генотип	ОШ (95-ый % ДИ)	Достоверность различий, р
<i>F13A1</i> 103T, <i>FGB</i> (-455)A, <i>PAI-1</i> (-675)4G, <i>ITGB3-b3</i> 1565C	12,333 (1,426-106,644)	0,022
<i>F13A1</i> 103T, <i>FGB</i> (-455)A, <i>PAI-1</i> (-675)4G, <i>ITGA2-a2</i> 807T, <i>ITGB3-b3</i> 1565C	12,333 (1,426-106,644)	0,022
<i>F13A1</i> 103T, <i>FGB</i> (-455)A, <i>ITGA2-a2</i> 807T, <i>ITGB3-b3</i> 1565C	9,361 (1,007-86,99)	0,04
<i>F13A1</i> 103T, <i>ITGA2-a2</i> 807T, <i>ITGB3-b3</i> 1565C	12,333 (1,426-106,644)	0,02

Общеизвестно, что «негативные» полиморфизмы по данным локусам, способствуют усилиению тромбофилических нарушений [Баранов Д.А., 2014], однако, в группе глубоко недоношенных новорожденных, включенных в наше исследование, наблюдается увеличение частоты геморрагических нарушений, что требует дальнейшего изучения.

Выводы:

1. Факторами риска формирования геморрагических нарушений у глубоко недоношенных новорожденных являются: ИЦН (ОШ=3,94), ПОНРП (ОШ=3,23), развитие дистресса плода с изменением ЧСС (ОШ=2,96), проведение ИВЛ на этапе стабилизации состояния в родильном зале (ОШ=4,21), ЭНМТ при рождении (ОШ=3,25), использование дополнительного кислорода при стабилизации состояния в родильном зале (ОШ=3,03), потребность в введении экзогенного сурфактанта (ОШ=2,97), состояние крайней степени тяжести при рождении (ОШ=2,93).
2. Факторами риска ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных служат: наличие ХВУГП (ОШ= 2,31), отсутствие самостоятельного дыхания при рождении (ОШ=3,88), проведение ИВЛ в родильном зале (ОШ= 2,61) с более высокими значениями пикового давления на вдохе; риск развития ВЖК III-IV степени повышен при ПОНРП (ОШ=31,11), крайне тяжелом состоянии при рождении (ОШ=28,2), проведении ИВЛ в родильном зале (ОШ=15,7), ЭНМТ при рождении (ОШ=10,5), при наличии врожденной пневмонии (ОШ=8,29).
3. Морфологическими особенностями тромбоцитов у глубоко недоношенных новорожденных до 28 недель гестации по сравнению с доношенными являются: более низкие значения PLT, MPC и более высокие значения Large-Plt и MPV.
4. У глубоко недоношенных новорожденных с геморрагическими нарушениями в сравнении с глубоко недоношенными новорожденными без геморрагических нарушений регистрируются: меньшая концентрация PLT, повышенное содержание тромбоцитов с большей MPC; глубоко недоно-

шенные новорожденные с ВЖК III–IV степени имеют более низкие значения PLT, более высокие значения MPC, PDW и Large-Plt.

5. Более высокие значения MPC и общего кальция сыворотки крови имеют прогностическое значение для формирования ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных. Молекулярно-генетическими предикторами повышенного риска формирования геморрагических нарушений у глубоко недоношенных новорожденных выступает одновременное присутствие в генотипе ребенка гетерозиготных вариантов генов *F2* 20210G/A и *F13A1* 103G/T, а ВЖК – сочетанные варианты присутствия в генотипе новорожденного «негативных» аллелей генов: *F13A1* 103T, *FGB* (-455)A, *PAI-1* (-675)4G, *ITGB3-b* 1565C, *ITGA2-a2* 807T.

Практические рекомендации

1. Рождение глубоко недоношенного новорожденного диктует необходимость учитывать совокупность факторов риска развития геморрагических нарушений, в том числе ВЖК, начиная с антенального периода.
2. Полученные значения показателей тромбоцитов у доношенных новорожденных целесообразно использовать в качестве референтных (для автоматического гематологического анализатора): PLT: 171,0-412,0 ×10³ кл/мкл, PCT: 0,17-0,30 %, MPV: 7,2- 10,5 фл, PDW: 50,7- 70,8 %, MPC: 23,3- 27,7 г/дл, MPM: 1,79- 2,26 г/дл, Large-Plt: 3,0- 11,0 ×10³ кл/мкл.
3. Недоношенным новорожденным сроком гестации менее 32 недель в 1 сутки жизни рекомендуется прогнозирование риска развития геморрагических нарушений с использованием значений MPC и уровня общего кальция в крови, с вычислением прогностического индекса $D = -28,943 - 0,054 \times A1 + 3,754 \times A2 + 0,908 \times A3$, где: A1 – срок гестации в полных акушерских неделях; A2 – концентрация общего кальция (Ca^{2+}), ммоль/л; A3 – средняя концентрация компонентов тромбоцитов (MPC), г/дл; – 28,943 – CONSTANT. При D более 0 прогнозируют развитие ВЖК в раннем неонатальном периоде, а при D менее 0 судят об отсутствии ВЖК в раннем неонатальном периоде.

4. Для прогнозирования развития у глубоко недоношенных новорожденных в раннем неонатальном периоде ВЖК III-IV степени рекомендуется использование программы для ЭВМ «Прогнозирование риска развития тяжелых внутрижелудочных кровоизлияний у глубоко недоношенных новорожденных (нейронная сеть)».

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в журналах, включенных в перечень изданий, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ для публикации научных результатов диссертации

1. **Будалова, А. В.** Морфофункциональные особенности тромбоцитов у недоношенных новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела / А. В. Будалова, Н. В. Харламова, Г. Н. Кузьменко // **Педиатр.** – 2021. – Т. 12, № 2. – С. 35–41.
2. Особенности тромбоцитарного и плазменного гемостаза у глубоконедоношенных новорожденных с геморрагическими нарушениями / А. В. Будалова, Н. В. Харламова, Г. Н. Кузьменко [и др.] // **Российский вестник перинатологии и педиатрии.** – 2022. – Т. 67, № 5. – С. 41–47.
3. Факторы риска и особенности полиморфизмов генов системы гемостаза матери, для прогнозирования развития геморрагических нарушений у недоношенных новорожденных / А. В. Будалова, Н. В. Харламова, И. Н. Фетисова [и др.] // **Современные проблемы науки и образования.** – 2020. – № 3. – С. 116. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29838> DOI 10.17513/spno.29838.
4. Факторы риска формирования геморрагических нарушений у глубоко недоношенных новорожденных в раннем неонатальном периоде / А. В. Будалова, Н. В. Харламова, А. А. Песенкина, И. А. Панова // **Неонатология: новости, мнения, обучение.** – 2022. – Т. 10, № 3(37). – С. 26–32.
5. Харламова, Н. В. Использование искусственного интеллекта для диагностики заболеваний и прогнозирования их исходов у новорожденных / Н. В. Харламова, И. Ф. Ясинский, М. А. Ананьева [и др.] // **Российский вестник перинатологии и педиатрии.** – 2023. – Т. 68, № 4. – С. 108–114.
6. Способ прогнозирования внутрижелудочных кровоизлияний у глубоконедоношенных новорожденных. Н. В. Харламова, А. В. Будалова, Г. Н. Кузьменко, Ю.А. Иваненкова, С.Б. Назаров. **Патент на изобретение № 2778301.**
7. Прогнозирование риска развития тяжелых внутрижелудочных кровоизлияний у глубоко недоношенных новорожденных (нейронная сеть): Н. В. Харламова, А. В. Будалова, А.А., Песенкина, И.Ф., Ясинский, Н.А., Шилова, С.Б., Назаров. **Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2022664020.**

Публикации в журналах, сборниках, материалах конференций

1. Особенности полиморфизма генов, контролирующих систему гемостаза у глубоко недоношенных новорожденных с геморрагическими нарушениями /

- А. В. Будалова, Н. В. Харламова, И. Н. Фетисова, С. Ю. Ратникова // Международный журнал научной педиатрии.** – 2022. – № 6. – С. 20–25.
2. **Будалова, А. В.** Особенности тромбоцитов у глубоко недоношенных новорождённых с геморрагическими нарушениями / **А. В. Будалова** // Российский педиатрический журнал. – 2021. – Т. 24, № S. – С. 15.
 3. Харламова, Н. В. Прогнозирование риска развития внутрижелудочных кровоизлияний у глубоко недоношенных новорождённых / Н. В. Харламова, **А. В. Будалова** // Российский педиатрический журнал. – 2023. – Т. 26, № S4. – С. 82.
 4. Морфометрические особенности тромбоцитов у недоношенных новорожденных / **А. В. Будалова**, Н. В. Харламова, Г. Н. Кузьменко [и др.] // Анестезия, и реанимация в акушерстве и неонатологии: материалы XIII Всероссийского образовательного конгресса. – М., 2020. – С. 58–59.
 5. Особенности тромбоцитарных показателей у недоношенных новорожденных / **А. В. Будалова**, Н. В. Харламова, С. Б. Назаров [и др.] // Материалы Российской форума по тромбозу и гемостазу совместно с 10-й конференцией по клинической гемостазиологии и гемореологии. – М., 2020. – С. 25.
 6. Факторы, определяющие показатели тромбоцитов у недоношенных новорожденных / **А. В. Будалова**, Н. В. Харламова, Г. Н. Кузьменко [и др.] // Материалы XV Международного конгресса по репродуктивной медицине. – Москва, 2021. – С. 115–116.
 7. **Будалова, А. В.** Тромбоцитарные индексы у доношенных новорожденных / **А. В. Будалова**, Г. Н. Кузьменко, Н. В. Харламова // Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека: материалы VII Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Иваново, 2021. – С. 72–73.
 8. Харламова, Н. В. Параметры тромбоцитов у новорожденных детей в раннем неонатальном периоде / Н. В. Харламова, **А. В. Будалова**, Г. Н. Кузьменко // Академия лабораторной медицины: новейшие достижения: материалы I Всероссийского конгресса с международным участием по фундаментальным проблемам лабораторной диагностики. – Москва, 2021. – С. 45.
 9. **Будалова, А. В.** Значение показателя гранулярности тромбоцитов для прогнозирования ВЖК у глубоко недоношенных новорожденных / **А. В. Будалова**, Н. В. Харламова // Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека: материалы VIII Всероссийской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием. – Иваново, 2022. – С. 5–7.
 10. Особенности полиморфизмов генов, контролирующих систему гемостаза у глубоко недоношенных новорожденных с геморрагическими нарушениями / **А. В. Будалова**, Н. В. Харламова, И. Н. Фетисова, С. Ю. Ратникова // Мать и дитя: материалы XXIII Всероссийского научно-образовательного. – Москва, 2022. – С. 225–226.
 11. Внутрижелудочные кровоизлияния у глубоко недоношенных новорожденных. Возможности прогнозирования / Н. В. Харламова, **А. В. Будалова**, Г.

- Н. Кузьменко, И. Г. Попова // Мать и дитя: материалы XXIII Всероссийского научно-образовательного форума. – Москва, 2022. – С. 268–269.
12. Прогнозирование развития внутрижелудочных кровоизлияний III-IV степени у глубоко недоношенных новорожденных / А. В. Будалова, Н. В. Харламова // Мать и дитя: материалы XXIV Всероссийского научно-образовательного форума. – Москва, 2023. – С. 150–151.
13. Возможности прогнозирования развития внутрижелудочных кровоизлияний III-IV степени у глубоко недоношенных новорожденных / А. В. Будалова, Н. В. Харламова, Н. А. Шилова, И. Ф. Ясинский // Наука и инновации - современные концепции: сборник научных статей по итогам работы Международного научного форума. – Москва: Инфинити, 2023. – С. 125-132.

Список сокращений и условных обозначений

ВЖК – внутрижелудочковое кровоизлияние
ДИ – доверительный интервал
ИВЛ – искусственная вентиляция легких
ИЦН – истмико-цервикальная недостаточность
НМТ – низкая масса тела
О₂ – кислород
ОНМТ – очень низкая масса тела
ОРИТН – отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных
ОШ – отношение шансов
ПОНРП – преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РДСН – респираторный дистресс-синдром новорожденного
САК – субарахноидальное кровоизлияние
ХВУГП – хроническая внутриутробная гипоксия плода
ЦНС – центральная нервная система
ЧСС – частота сердечных сокращений
ЭВМ – электронно-вычислительная машина
ЭНМТ – экстремально низкая масса тела
CPAP – continuous positive airway pressure
Large-Plt – large platelet (концентрация больших форм тромбоцитов)
Ме – медиана
MPC – mean platelet concentration (средняя концентрация компонентов тромбоцита)
MPM – mean platelet mass (средняя сухая масса тромбоцита)
MPV – mean platelet volume (средний объем тромбоцита)
PCT – plateletcrit (тромбокрит)
PDW – platelet size distribution width (ширина распределения тромбоцитов по объему)
PIP – peak inspiratory pressure
PLT – platelet (концентрация тромбоцитов)