

М.А. Леонтьев<sup>1</sup>, Е.Б. Родзаевская<sup>1</sup>, А.В. Леонтьева<sup>2</sup>

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ТРОМБОЦИТОВ НОВОРОЖДЕННЫХ

<sup>1</sup>Кафедра морфологии и патологии частного учреждения образовательной организации ВПО «Саратовский медицинский университет «Реавиз», <sup>2</sup>ГУЗ «Клинический перинатальный центр Саратовской области», г. Саратов, РФ



**Обоснование исследования:** тромбоциты (Тр) как взрослых людей, так и новорожденных в последние десятилетия являются предметом активного изучения. Крайне небольшой размер этих форменных элементов, способных изменять морфологию в зависимости от условий внешней среды, обуславливает трудности их изучения, рождая многочисленные споры и противоречия. Эталонный диапазон для количества Тр, а также для значений тромбоцитарных показателей, получаемых в качестве части общеклинического анализа крови у новорожденных, является предметом дискуссий. Тромбоэластография (ТЭГ) – относительно новый метод функциональной глобальной оценки гемостаза, который с успехом может применяться в неонатологии, затруднения вызывает лишь интерпретация результатов, в виду ограниченного количества исследований у данной категории пациентов. Цель исследования: провести комплексную оценку Тр новорожденных как с позиции морфологии, так и функциональной способности. Материалы и методы исследования: в исследование включены 50 здоровых доношенных новорожденных. Осуществляли забор капиллярной крови с последующим приготовлением и микроскопией мазков, одновременно производили взятие венозной крови для проведения ТЭГ. Результаты: в ходе исследования установлено, что большая часть популяции Тр новорожденных детей представлена зрелыми формами 76% (73–80%), меньшую часть составили активированные – 17% (13–19,5%), старые – 5% (4–7,5%) и юные формы, количество которых не превышает 2% (1–2%). Исследование функциональной способности Тр показало результаты, согласующиеся с ранее проведенными исследованиями, в которых обнаруживается более выраженный коагуляционный потенциал у здоровых новорожденных в сравнении со взрослыми лицами. Заключение: дана комплексная морфофункциональная оценка Тр новорожденных, установлены интервалы референтных значений тромбоцитарных показателей, впервые описаны формы Тр новорожденных, исследованы показатели ТЭГ, характеризующие тромбоцитарное звено гемостаза.

**Ключевые слова:** тромбоциты, морфология, тромбоцитарные показатели, тромбоэластография, новорожденные дети.

**Цит.:** М.А. Леонтьев, Е.Б. Родзаевская, А.В. Леонтьева. Морфофункциональная характеристика тромбоцитов новорожденных. Педиатрия. 2018; 97 (4): 66–70.

М.А. Leontyev<sup>1</sup>, Е.В. Rodzaevskaya<sup>1</sup>, А. V. Leontyeva<sup>2</sup>

## MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF PLATELETS IN NEWBORNS

<sup>1</sup>Morphology and Pathology Department of the Private Institution of the Saratov Medical University «Reaviz»;  
<sup>2</sup>Clinical perinatal center of the Saratov region, Saratov, Russia

### Контактная информация:

Леонтьев Михаил Александрович – асп. каф. морфологии и патологии частного учреждения образовательной организации ВПО «Саратовский медицинский университет «Реавиз»  
Адрес: Россия, 443001, г. Саратов, Дегтярная площадь, 227  
Тел.: (967) 004-34-61,  
E-mail: miwa\_leontev@mail.ru  
Статья поступила 23.01.18,  
принята к печати 6.06.18.

### Contact Information:

Leontiev Mikhail Aleksandrovich – post-graduate student of Morphology and Pathology Department of the Private Institution of the Saratov Medical University «Reaviz»  
Address: Russia, 443001, Saratov, Degtyarnaya Square, 227  
Tel.: (967) 004-34-61,  
E-mail: miwa\_leontev@mail.ru  
Received on Jan. 23, 2018,  
submitted for publication on Jun. 6, 2018.

**Rationale for the study:** platelets in both adults and newborns have been the subject of active research in recent decades. The extremely small size of these form elements, capable of changing the morphology depending on the conditions of the external environment, makes it difficult to study them, leading to numerous disputes and contradictions. The reference range for the number of platelets, as well as for the platelet count values obtained as part of the general clinical blood analysis in newborns, is a matter of debate. Thromboelastography (TEG) is a relatively new method for a functional global assessment of hemostasis, which can be successfully used in neonatology, and the difficulty is due only to results interpretation due to limited number of studies in this category of patients. Objective of the research – to conduct a comprehensive evaluation of newborn platelets, both from the position of morphology and functional ability. Materials and methods: the study included 50 healthy term infants. Capillary blood was collected, followed by preparation and microscopy of smears, also venous blood for TEG was collected. Results: the study revealed that the majority of platelets population in newborns is represented by mature forms of 76% (73–80%), the smaller part was activated – 17% (13–19,5%), old – 5% (4–7,5%) and young forms, the number of which does not exceed 2% (1–2%). The study of platelets functional capacity showed results consistent with previous studies in which a more pronounced coagulation potential is found in healthy newborns compared with adults. Conclusion: complex morphofunctional evaluation of platelets in newborns was performed, intervals of reference values of platelet counts were revealed, platelets forms in newborns were described for the first time, TEG indexes characterizing platelet hemostasis were explored.

**Keywords:** platelets, morphology, thrombocyte indices, thromboelastography, newborn children.

**Quote:** M.A. Leontyev, E.B. Rodzaevskaya, A.V. Leontyeva. Morphofunctional characteristics of platelets in newborns. *Pediatrics*. 2018; 97 (4): 66–70.

Тромбоциты (Тр) являются центральным компонентом гемостаза, осуществляющим связь между эндотелием сосудистой стенки, плазменными белками и клетками крови с целью адаптивного взаимодействия и предотвращения развития кровотечения при появлении поврежденного участка эндотелия [1]. Не вызывает сомнения, что биологическая активность и функциональная полноценность Тр зависят от их морфологической целостности [2]. На сегодняшний день проведены малочисленные исследования, установившие функциональные особенности системы гемостаза у доношенных новорожденных [3, 4], однако изучение морфологии Тр у данной категории детей до настоящего времени не проведено, что обуславливает необходимость в проведении такого рода исследований. Кроме того, имеется большое количество исследований, в которых используются тромбоцитарные показатели, полученные в качестве части автоматического общеклинического анализа крови, но нет работ, устанавливающих диапазон референтных значений для этих показателей у новорожденных, что не позволяет сравнивать и анализировать получаемые значения.

#### Материалы и методы исследования

Для характеристики Тр в морфологическом и функциональном аспектах выполнено исследование крови 50 здоровых доношенных новорожденных.

Исследование выполнено с письменного добровольного согласия родителей, одобрено этическим комитетом частного учреждения образовательной организации высшего профессионального образования «Саратовский медицинский университет «Ревиз».

Критерии включения в исследование: здоровые дети, рожденные при сроке гестации 37–42 недели с оценкой по шкале В. Апгар на первой минуте не менее 7 баллов.

Критерии исключения: возраст старше 28 дней, наличие генетически обусловленной патологии системы гемостаза, а также отказ родителей от участия в исследовании.

В соответствии с рекомендациями международного комитета по стандартизации в гематологии (ICSH) производили забор капиллярной крови скарификатором по унифицированной методике в вакуумную пробирку, содержащую стандартное количество ЭДТА КЗ (этилендиамидтетрауксусная кислота) [5]. В течение часа изготавливали мазки по общепринятой методике, высушивали на воздухе. Высушенные мазки фиксировали в растворе фиксатора – красителя Май–Грюнвальда 5 мин с последующим докрасиванием по Романовскому в течение 5 мин, после чего мазки высушивали для дальнейшего микрофотографирования. Одновременно осуществляли взятие крови стандартным способом венепункции для гемостазиологических лабораторных исследований с использованием пробирок с 3,2% натрия цитрата.

Подсчет количества Тр (PLT, тыс) с определением среднего объема Тр (MPV, фл), ширины распределения Тр по объему (PDW, %), тромбокрита (PCT, %) производили на проточном гематологическом анализаторе Mindray BC-3000 Plus (Mindray, Китай).

Функциональную способность Тр оценивали с помощью тромбоэластографии (ТЭГ). Измерение параметров ТЭГ проводили на тромбоэластографе TEG-5000 (Haemoscope Corporation, США). Исследования выполнены после рекальцификации цельной крови 0,2 М раствором кальция хлорида (20 мкл CaCl<sub>2</sub> и 340 мкл цитратной крови). Учитывали два показателя — максимальную амплитуду (МА) и прочность сгустка

(G), характеризующие функциональную способность Тр.

Исследование мазков крови проводили на микроскопе LEICA DMLS (Германия), конденсор 0,9/1,25, объектив Planachronat 100/1,25 (масляная иммерсия). Фотографирование осуществляли с помощью цифровой камеры LEICA MC170HD 5-мп. Обработку и анализ изображений проводили при помощи программы JimageJ (National Institutes of Health, США). Измеряли следующие параметры Тр: размер (мкм), соотношение гиаломера к грануломеру (%), форма Тр, наличие или отсутствие отростков. При использованной методике окраски периферическая часть – гиаломер – окрашивалась в темно-розовый, а центральная часть – грануломер – в фиолетовый цвет.

Математический и статистический анализы результатов обследования пациентов проведены с использованием пакетов прикладных программ Statistica 7.0 for Windows корпорации StatSoft-Russia, Microsoft Office Exelle 2016. Используются непараметрические методы статистической обработки данных, так как объем выборки достаточно мал (n=50). Результаты представляли в виде медианы и квартилей (Me, Q25, Q75).

**Результаты**

Для уточнения диапазона референтных значений тромбоцитарных показателей проанализированы результаты общеклинического анализа крови, выполненного при помощи автоматического гематологического анализатора у 50 здоровых доношенных новорожденных в период с первых по 3-и сутки жизни (см. таблицу).

Одновременно изучали тромбоцитарную формулу. Согласно разработанной нами классификации, популяция Тр новорожденных представлена неактивными формами, среди которых выделяют юные, зрелые и старые, а также активированными форменными элементами. Ниже приведена их характеристика.

Неактивные Тр, преимущественно дискоидной формы:

- юные, размером от 3 мкм и более, округлой или овальной формы. Гиаломер в них преобладает над грануломером и окрашивается в темно-розовый цвет. Равномерно распределенный по всей площади Тр грануломер окрашивается в фиолетовый цвет. Гигантские или макроформы по своей сути относятся к юным, но выделе-

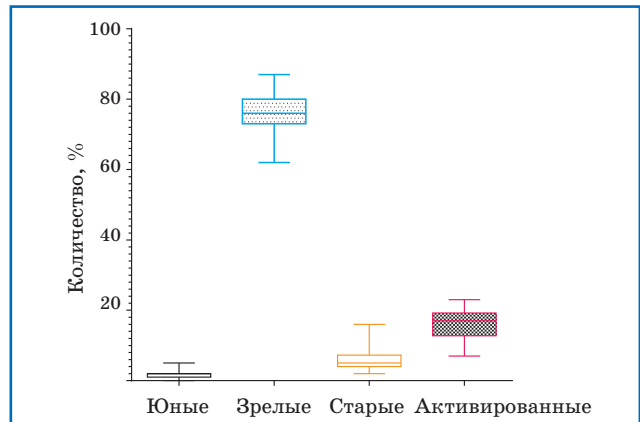
*Таблица*

**Тромбоцитарные показатели новорожденных**

Показатели	Me, LQ-UQ
PLT, тыс. в мкл	281,5 246-340
MPV, фл	5,7 5-7,25
PDW, %	19,15 18,55-19,9
PCT, %	0,16 0,14-0,21



**Рис. 1. Морфологические формы Тр новорожденных.** Окраска Май-Грюнвальд-Романовский, ув. 1000; применена цветокоррекция для наилучшей визуализации основных структур, в т.ч. длинных отростков активированного Тр.



**Рис. 2. Тромбоцитарная формула новорожденных.**

ние их нецелесообразно, поскольку отсутствует общепринятое определение, Тр какого размера считать гигантскими, потому все макроформы будут отнесены к юным;

- зрелые, размером от 1 до 3 мкм, округлой или неправильной формы. Грануломер выражен более значимо и представлен либо отдельными гранулами, либо сплошной зернистой массой. Иногда различимы пальцеобразные отростки;

- старые формы, имеют размер от 0,5 до 1 мкм, чаще округлой формы. Единственная различимая структура – интенсивно окрашенный в темно-фиолетовый цвет грануломер, гиаломер не различим.

Активированные Тр представлены форменными элементами, сильно различающимися по размеру, округлой или неправильной формы, содержащими выраженные отростки. Гиаломер выглядит светлым с единичными гранулами, либо вообще без них. Дегенеративные и вакуолизированные формы, которые выделяют некоторые исследователи, следует рассматривать как финальные стадии жизни активированного Тр.

В результате исследования морфологии Тр в мазках крови стало известно, что большая часть популяции Тр новорожденных детей представлена зрелыми формами 76% (73–80%), меньшую часть составили активированные – 17% (13–19,5%), старые – 5% (4–7,5%) и юные формы, количество которых не превышает 2% (1–2%). Стоит заметить, что количество активированных форм не может достоверно отражать их реальное содержание в крови, так как Тр являются высокореактивными клетками и способны к активации при соприкосновении с любой чужеродной средой. Другими словами, нельзя исключить,

что полученное количество активированных клеток не является дефектом забора крови и использованной методики приготовления мазков. Только сравнительные исследования  $Tp$  у новорожденных с различной патологией, которая может влиять на изменение тромбоцитарной формулы (гипоксия, воспаление), может дать достоверную информацию о соотношении различных форм, в т.ч. о количестве активированных клеток, при условии применения одинаковой методики.

При проведении ТЭГ учитывали два показателя, характеризующие тромбоцитарное звено гемостаза – это максимальная амплитуда (МА) и прочность (G) [6]. МА — показатель, отражающий максимум динамических свойств соединения фибрина и  $Tp$ . На 80% показатель МА обусловлен количеством и способностью  $Tp$  к агрегации, а на 20% – количеством образовавшегося фибрина. До сих пор исследователи не пришли к единому мнению относительно диапазона нормальных значений для этого показателя у новорожденных, демонстрируя все новые данные. Показатель G характеризует прочность сгустка. Нормальное значение для новорожденных, согласно исследованию, проведенному Edwards et al., составляет  $8,4 \pm 1,6$  д/см<sup>2</sup> [7]. Для наглядности приведена ТЭГ одного из обследованных детей (рис. 3).

В нашем исследовании показатель МА составил 60 мм (50–62,7 мм), а прочность – 7,7 д/см<sup>2</sup> (7,45–8,4 д/см<sup>2</sup>).

### Заключение

Количество  $Tp$  периферической крови здоровых новорожденных в нашем исследовании несущественно отличается от значений здоровых взрослых лиц. Касаемо тромбоцитарных показателей, надо отметить, что результаты данной работы несколько отличаются от значений, полученных другими исследователями. Так, в исследовании A. Wasiluk et al. MPV у доношенных новорожденных был выше – 7,84 фл [8]. Что касается дисперсии распределения по объему и тромбокрит, то здесь информация по новорожденным в доступной литературе отсутствует. Тромбоцитарная формула новорожденных представлена юными 2% (1–2%), зрелыми 76% (73–80%), старыми 5% (4–7,5%) и активированными 17% (13–19,5%) формами.



Рис. 3. ТЭГ новорожденного.

Исследование функциональной способности  $Tp$  показало результаты, которые согласуются с ранее проведенными исследованиями, в которых обнаруживается более выраженный коагуляционный потенциал у здоровых новорожденных (МА=55,7–64,8 мм; G=6,7–9,2 д/см<sup>2</sup>) по сравнению со взрослыми лицами (МА=52,1–58,7 мм; G=5,45–7,1 д/см<sup>2</sup>) [4]. Г.Н. Кузьменко и соавт. получили следующие значения МА: 59,4 мм (56,6–62,2 мм) [9], а проведенное в 2017 г. исследование показало среднее значение, равное 61,9 мм (59,4–66 мм) [10]. По данным R.M. Edwards et al., показатель G у новорожденных больше по сравнению с детьми старшего возраста –  $7,4 \pm 1,3$  д/см<sup>2</sup>, но несколько меньше в сравнении со взрослыми лицами ( $8,9 \pm 1,6$  д/см<sup>2</sup>) [7]. Такая гиперкоагуляционная направленность гемостаза, по мнению некоторых авторов, может быть обусловлена пониженной плазменной концентрацией ингибиторов коагуляции и повышением содержания фибриногена, фактора VIII, фактора фон Виллебранда [11].

Таким образом, можно сказать, что морфофункциональное состояние  $Tp$  новорожденных детей представляет собой одну из наименее изученных проблем современной гемцитологии и только начинает развиваться. Настоящее исследование дало комплексную морфофункциональную оценку  $Tp$  новорожденных. Теоретические исследования в этом направлении, несомненно, должны явиться фундаментом для практической медицины.

**Конфликт интересов:** авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования, о которой необходимо сообщить.

Leontyev M.A. 0000-0001-7625-2771

Rodzaevskaya E.B. 0000-0003-1721-4008

Leontyeva A.V. 0000-0002-4887-3199

### Литература

1. Budak YU, Polat M, Huysal K. The use of platelet indices, plateletcrit, mean platelet volume and platelet distribution width in emergency non-traumatic abdominal surgery: a systematic review. *Biochemia Medica*. 2016; 26 (2): 178–193.
2. Мазуров А.В. Физиология и патология тромбоцитов. М.: Литтерра, 2011: 12–23.
3. Кузьменко Г.Н., Назаров С.Б., Попова И.Г., Клычева М.М., Харламова Н.В. Функциональные особенности гемостаза доношенных и недоношенных новорожденных, по дан-

ным тромбоэластографии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 5: 14–17.

4. Бережанская С.Б., Тодорова А.С., Лукьянова Е.А., Каушанская Е.Я., Черных А.Г. Оценка состояния гемостаза у новорожденных с перинатальным гипоксическим поражением центральной нервной системы методом тромбоэластографии. *Научное обозрение. Медицинские науки*. 2015; 1: 77. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=11990> (дата обращения: 18.01.2018).
5. Palmer L, Briggs C, McFadden S, Zini G, Burthem J,

Rozenberg G, Proytcheva M, Machin SJ. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. *Int. J. Lab. Hematol.* 2015; 37 (3): 287–303.

6. Ferrer-Marin F, Chavda C, Lampa M, Michelson AD, Frelinger AL 3<sup>rd</sup>, Sola-Visner M. Effects of in vitro adult platelet transfusions on neonatal hemostasis. *J. Thromb. Haemost.* 2011; 9 (5): 1020–1028.

7. Edwards RM, Naik-Mathuria BJ, Gay AN, Olutoye OO, Teruya J. Parameters of thromboelastography in healthy newborns. *Am. J. Clin. Pathol.* 2008; 130 (1): 99–102.

8. Wasiluk A, Dabrowska M, Osada J, Jasinska E, Laudanski T, Redzko S. Platelet indices in SGA newborns. *Adv. Med. Sci.* 2011; 56 (2): 361–365.

9. Кузьменко Г.Н., Назаров С.Б., Попова И.Г., Клычева М.М., Харламова Н.В., Малышкина А.И. Инновационная технология оценки гемостатического потенциала крови недоношенных новорожденных. *Российский педиатрический журнал.* 2015; 18 (2): 4–10.

10. Sewell EK, Forman KR, Wong ECC, Gallagher M, Luban, Massaro AN. Thromboelastography in term neonates: an alternative approach to evaluating coagulopathy. *Archives of Disease in Childhood, Fetal. and Neonatal.* Edition. 2017; 102 (1): 79–84.

11. Radicioni M, Mezzetti D, Del Vecchio A, Motta M. Thromboelastography: might work in neonatology too? *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* 2012; 25 (4): 10–13.

© Коллектив авторов, 2018

DOI: 10.24110/0031-403X-2018-97-4-70-77  
<https://doi.org/10.24110/0031-403X-2018-97-4-70-77>

А.Б. Сугак, Г.Н. Николаева, Е.В. Феоктистова, М.Е. Лохматова, Е.А. Тихомирова

## ОЦЕНКА ФУНКЦИИ ЛЕВОГО ЖЕЛУДОЧКА СЕРДЦА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДИКИ СПЕКЛ-ТРЕКИНГА У ДЕТЕЙ С $\beta$ -ТАЛАССЕМИЕЙ

Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ, Москва, РФ



**Цель исследования:** оценка возможности нового метода спекл-трекинг эхокардиографии (ЭХОКГ) в оценке функции сердца у детей с  $\beta$ -талассемией. **Материалы и методы исследования:** 14 детям с  $\beta$ -талассемией и 17 условно здоровым детям проведены оценка систолической функции сердца традиционными методами ЭХОКГ и оценка деформации миокарда методом спекл-трекинг. **Результаты:** у пациентов с  $\beta$ -талассемией по сравнению с контрольной группой было выявлено статистически значимое увеличение диастолических и систолических размеров и объемов левого желудочка (ЛЖ), индексов объемов ЛЖ, массы миокарда, индекса массы миокарда ЛЖ, ударного и минутного объемов ЛЖ и сердечного индекса. Толщина стенок ЛЖ, ЧСС и фракция выброса ЛЖ в группах не различались. По данным спекл-трекинг ЭХОКГ у пациентов с  $\beta$ -талассемией отмечалось статистически значимое увеличение глобальной радиальной деформации ЛЖ на уровне верхушки по сравнению с контрольной группой. Глобальная продольная и радиальная деформация ЛЖ на уровне базальных и средних отделов в группах не различалась. **Заключение:** нарушения систолической функции у детей с  $\beta$ -талассемией не были выявлены как традиционными ЭХОКГ-методами, так и методом спекл-трекинг. Выявленное увеличение радиальной деформации миокарда ЛЖ у пациентов с  $\beta$ -талассемией может быть компенсаторным механизмом, связанным с объемной перегрузкой при хронической анемии.

**Ключевые слова:** дети,  $\beta$ -талассемия, кардиомиопатия, спекл-трекинг, эхокардиография.

**Цит.:** А.Б. Сугак, Г.Н. Николаева, Е.В. Феоктистова, М.Е. Лохматова, Е.А. Тихомирова. Оценка функции левого желудочка сердца с использованием методики спекл-трекинга у детей с  $\beta$ -талассемией. *Педиатрия.* 2018; 97 (4): 70–77.

### Контактная информация:

**Сугак Анна Борисовна** – д.м.н., врач ультразвуковой диагностики отделения ультразвуковой диагностики Национального медицинского исследовательского центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ  
**Адрес:** Россия, 117997, ГСП-7, Москва, ул. Саморы Машела, 1  
**Тел.:** (495) 287-65-70, **E-mail:** sugak08@mail.ru  
 Статья поступила 5.02.18, принята к печати 6.06.18.

### Contact Information:

**Sugak Anna Borisovna** – MD., doctor of ultrasound diagnostics of the Ultrasound Diagnostics Department, National Scientific-Practical Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology n.a. D. Rogachev  
**Address:** Russia, 117997, GSP7, Moscow, Samory Mashela str., 1  
**Tel.:** (495) 287-65-70, **E-mail:** sugak08@mail.ru  
 Received on Feb. 5, 2018, submitted for publication on Jun. 6, 2018.