

# Исследование клеточного состава и морфологии лейкоцитов доношенных и недоношенных новорожденных при помощи клеточного биочипа

О.С. Федянина<sup>1,2</sup>, А.Е. Задорожная<sup>3</sup>, А.Н. Хвастунова<sup>1,2</sup>, Е.М. Кольцова<sup>1,2</sup>,  
Е.Н. Балашова<sup>4</sup>, Л.А. Тимофеева<sup>4</sup>, А.Л. Караваева<sup>4</sup>, М.Б. Шаманова<sup>5</sup>,  
С.Н. Волков<sup>5</sup>, О.С. Бурова<sup>6</sup>, Н.М. Дашкевич<sup>1,2</sup>, А.В. Филатов<sup>7</sup>,  
С.А. Кузнецова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва

<sup>2</sup> ФГБУН «Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук», Москва

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова», Москва

<sup>4</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва

<sup>5</sup> Перинатальный медицинский центр «Мать и дитя», Москва

<sup>6</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

<sup>7</sup> ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» ФМБА России, Москва

Определение как количественного соотношения различных типов лейкоцитов, так и их морфологических характеристик в периферической крови новорожденных имеет высокую потенциальную значимость для диагностики различных заболеваний, в том числе комбинированных иммунодефицитов и сепсиса новорожденных. Разработка скрининговых методов параллельного исследования популяционного состава и морфологии лейкоцитов периферической крови новорожденных – актуальная задача. Целью работы было параллельное исследование относительно количества различных подгрупп лейкоцитов и изучение их морфологических характеристик в крови здоровых доношенных и недоношенных новорожденных и здоровых взрослых при помощи клеточного биочипа – прозрачной подложки с иммобилизованными антителами к поверхностным CD-антигенам лейкоцитов. Данное исследование одобрено Ученым советом, поддержано Независимым этическим комитетом центра, а также комиссией по этике биомедицинских исследований при ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова». В работе исследовали периферическую кровь 12 доношенных (38–42 нед. гестации) и 9 недоношенных (22–32 нед. гестации) новорожденных и 18 взрослых здоровых доноров. Исследование количественного соотношения различных групп лейкоцитов и их морфологии производили с помощью клеточного биочипа, в панель которого входили антитела к CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD10, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD19, CD20, CD22, CD25, CD33, CD38, CD41a, CD45, CD45RA, CD45RO, CD61, CD64, CD117, CD123, HLA-DR. Доли лейкоцитов, несущих исследуемые поверхностные CD-антигены, среди мононуклеаров периферической крови недоношенных новорожденных, доношенных новорожденных и здоровых взрослых, определенные с помощью клеточного биочипа, хорошо согласуются с опубликованными данными, полученными методом проточной цитометрии. Среди лейкоцитов, несущих на поверхности CD11b, в крови недоношенных и доношенных новорожденных обнаружены миелоциты и метамиелоциты в количестве до 21 и 27% соответственно. Полученные данные могут быть использованы как референсные значения при использовании биочипа в качестве скринингового метода в комплексной ранней диагностике комбинированных иммунодефицитов и неонатального сепсиса.

**Ключевые слова:** клеточный биочип, иммунофенотип, новорожденные, лимфоциты, CD-антигены

Федянина О.С. и соавт. Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии, 2018; 17 (4): – .  
DOI: 10.24287/1726-1708-2018-17-4- -

## Контактная информация:

Кузнецова Софья Алексеевна,  
канд. физ.-мат. наук, ученый  
секретарь Высшей школы молекулярной и экспериментальной  
медицины НМИЦ детской гематологии,  
онкологии и иммунологии  
им. Дмитрия Рогачева Минздрава  
России.  
Адрес: 117997 Москва,  
ул. Саморы Машела, 1  
E-mail: kuznetsova.sonya@gmail.com

© 2018 by NMRC PHOI

## Leukocyte subgroup distribution and morphology in blood of premature and full-term newborn babies studied by the cell microarray

O.S. Fedyanina<sup>1,2</sup>, A.E. Zadorozhnaya<sup>3</sup>, A.N. Khvastunova<sup>1,2</sup>, E.M. Koltsova<sup>1,2</sup>, E.N. Balashova<sup>4</sup>, L.A. Timofeeva<sup>4</sup>, A.L. Karavaeva<sup>4</sup>, M.B. Shamanova<sup>5</sup>, S.N. Volkov<sup>5</sup>, O.S. Burova<sup>6</sup>, N.M. Dashkevich<sup>1,2</sup>, A.V. Filatov<sup>7</sup>, S.A. Kuznetsova<sup>1,2</sup>

### Correspondence:

Sofia A. Kuznetsova, PhD, laboratory of biophysics, Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation.  
Address: Russia 117997, Moscow, Samory Mashela st., 1  
E-mail: kuznetsova.sonya@gmail.com

<sup>1</sup> Dmitriy Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology, Immunology Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

<sup>2</sup> Center for Theoretical Problems in Physico-Chemical Pharmacology Russian Academy of Sciences, Moscow

<sup>3</sup> Lomonosov Moscow State University, Moscow

<sup>4</sup> Federal State Budget Institution National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology named after Academician V.I. Kulakov of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow

<sup>5</sup> Perinatal Medical Center "Mother and child", Moscow

<sup>6</sup> N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia, Moscow

<sup>7</sup> National Research Center "Institute of Immunology of the Federal Medical-Biological Agency of Russia", Moscow

Both the ratio of different leukocyte subgroup content and the leukocyte morphology in peripheral blood of newborns are important in diagnosis of several diseases including combined immunodeficiency and neonatal septicemia. There is a need for development of screening methods for parallel study of the leukocyte morphology and population structure in the newborn peripheral blood. We aimed to determine the relative abundance of different leukocyte subsets and to study their morphology in full-term and premature newborn babies and healthy adult volunteers using the cell-binding microarray – a transparent support with immobilized antibodies against leukocyte cluster-of-differentiation antigens. The work was supported by the Scientific council and approved by the ethical committee of the Centre. We have studied the peripheral blood of 12 full-term newborns (38–40 weeks gestation), 9 premature newborns (22–32 weeks gestation) and 18 healthy adults. The relative abundance of the leukocyte and their morphology were determined using the cell-binding microarray including antibodies against CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8, CD10, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD19, CD20, CD22, CD25, CD33, CD38, CD41a, CD45, CD45RA, CD45RO, CD61, CD64, CD117, CD123, HLA-DR. The percentage of leukocytes positive for every of the studied surface CD antigens among the peripheral blood mononuclear cells of full-term and preterm newborn babies and healthy adults determined on the cell-binding microarray are in good agreement with published flow cytometry data. CD11b+ leukocytes both in premature and full-term newborns included up to 21% myelocytes and 27% metamyelocytes. The reported data can be used as reference values in cell-binding microarray application in diagnosis of combined immunodeficiency or neonatal septicemia.

**Key words:** cell microarray, immunophenotype, newborn babies, lymphocytes, CD-antigens

Fedyanina O.S., et al. Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology, 2018; 17 (4): – .

DOI: 10.24287/1726-1708-2018-17-4- –

Исследование популяционного состава лейкоцитов периферической крови имеет высокую потенциальную значимость для диагностики различных заболеваний. Так, например, показано, что относительное количество миелоидных предшественников (промиелоцитов, миелоцитов, метамиелоцитов и палочкоядерных нейтрофилов) в крови новорожденных может свидетельствовать о риске развития сепсиса [1–3]. В работе V.N. Umlauf и соавт. [4] показано, что исследование уровня экспрессии CD64 и CD11b на нейтрофилах и HLA-DR на моноцитах методом проточной цитометрии также может быть использовано для диагностики раннего и позднего сепсиса новорожденных. Количество Т-лимфоцитов в периферической крови, определяемое как напрямую – методом проточной цитометрии, так и косвенно – с помощью определения количества Т-рецепторных эксцизионных колец, – основной потенциальный метод скрининга новорожденных на тяжелый комбинированный иммунодефицит [5]. Однако на сегодняшний день такие исследования не вошли в повседневную практику в связи с высокой стоимостью их проведения.

Поиск недорогих, пригодных для скрининга методов исследования популяционного состава и морфологии лейкоцитов периферической крови новорожденных остается актуальной задачей. Один из таких методов – исследование крови с помощью клеточного биочипа. Клеточный биочип представляет собой

прозрачную подложку, на поверхности которой в определенных местах упорядоченным образом иммобилизованы антитела к поверхностным CD-антигенам лейкоцитов [6, 7]. Клеточный биочип может быть использован для исследования размера и морфологического состава различных популяций лейкоцитов в лейкоконцентратах, полученных из крови или костного мозга [6, 7]. Основное преимущество клеточного биочипа – возможность исследования морфологии клеток, несущих на поверхности определенные CD-антигены. Кроме того, этот метод может быть использован в скрининговых целях за счет невысокой стоимости исследования на клеточном биочипе по сравнению с проточной цитометрией.

В литературе приведены данные как о численности основных групп лейкоцитов в крови новорожденных, полученные методом проточной цитометрии [8, 9], так и об определенном морфологически количестве незрелых нейтрофильных предшественников в крови доношенных [3, 10] и недоношенных [11] новорожденных. Однако исследование крови новорожденных с помощью клеточного биочипа ранее не проводилось.

Основной целью данной работы было исследование популяционного состава лейкоцитов в крови новорожденных на биочипе для установления референсных значений для разных групп лейкоцитов на клеточном биочипе у доношенных и недоношенных новорожденных.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В данное исследование включили 12 доношенных новорожденных, рожденных на 38–42-й неделе, с массой тела 2940–4270 г (медиана – 3295 г) и ростом 48–54 см (медиана – 52 см); по шкале Апгар – 8–9 баллов, не имеющих родовых травм, врожденных пороков развития, хромосомных дефектов, метаболических заболеваний и врожденных инфекций, и 9 недоношенных новорожденных, рожденных в период 22–32 недели гестации, с массой тела 660–1270 г (медиана – 990 г) и ростом 28–37 см (медиана – 35 см), 5–8 баллов по шкале Апгар (медиана – 8 баллов), у которых встречались следующие отклонения, не влияющие на результаты исследования: у 5 из 9 – респираторный дистресс-синдром; у 4 из 9

– врожденные инфекции (пневмония, энтероколит); у 2 из 9 – задержка внутриутробного развития 3-й степени; 2 из 9 новорожденных – однайцевые близнецы.

В качестве группы контроля в исследовании участвовали 18 здоровых добровольцев в возрасте 20–43 лет, среди них 5 мужчин и 13 женщин. Все участники данного исследования или их законные представители подписали информированное согласие. Исследование одобрено Комиссией по этике биомедицинских исследований при Национальном медицинском исследовательском центре акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова (протокол № 7 от 28.05.2015).

*Изготовление биочипов.* Биочипы изготавливали в соответствии с ранее опубликованным протоколом [6, 7] с небольшими модификациями (при

Таблица 1

**Количество лейкоцитов, положительных по различным CD-антигенам, в крови новорожденных и взрослых, в процентах от всех CD45RA+ мононуклеаров на биочипе**

CDx	Новорожденные 22–32 нед. гестации (n = 9)		Новорожденные 38–42 нед. гестации (n = 12)		Взрослые (n = 18)	
	медиана, %	Min–Max <sup>a</sup> , %	медиана, %	Min–Max <sup>a</sup> , %	медиана, %	Min–Max <sup>a</sup> , %
CD2	72**	25–100	78	55–100	94	62–100
CD3	39*..**	15–77	64	26–100	81	21–100
CD4	40	17–66	30	4–54	37	9–64
CD5	59**	21–69	58	35–90	77	18–100
CD7	62	28–96	66	32–84	73	31–97
CD8	17	6–28	12**	4–23	21	7–46
CD11b	45	22–66	66	37–125	42	16–100
CD14	8	0–59	17**	7–62	6	1–18
CD15	4	0–8	6**	1–25	1	0–9
CD16	21	10–53	21	3–78	15	4–61
CD19	9	3–13	16	7–23	13	4–28
CD20	8	3–21	12	6–18	10	4–21
CD22	5	0–10	6	0–15	11	4–22
CD25	5	1–17	6	2–12	10	2–30
CD33	16	0–31	6	1–21	5	0–21
CD38	60**	4–100	38**	11–65	19	1–49
CD45RO	9	1–66	30	11–66	21	0–59
CD56	1	0–7	2	0–6	2	0–4
CD64	9	2–13	30**	5–65	9	1–29
HLA-DR	30	7–54	41	14–64	28	5–67
IgM	12	0–23	14**	8–21	9	1–19
mIgG1	1	0–5	2	0–8	1	0–2
CD4/CD8	2,6**	1,6–5,2	2,5**	0,2–7,4	1,6	1–2,9

Примечание: в таблице представлены медианы значения плотности связывания лимфоцитов с анти-CDx, минимальное (Min) и максимальное (Max) измеренные значения плотности связывания.

\* Значения, имеющие значимые различия по плотности заполнения данного CD с соответствующим значением для доношенных новорожденных по критерию Манна–Уитни.

\*\* Значения, имеющие значимые различия по плотности заполнения данного CD с соответствующим значением для взрослых по критерию Манна–Уитни.

<sup>a</sup> Минимальное и максимальное значения из выборки, за исключением выбросов (значений, лежащих ниже или выше 1-й и 3-й квартилей на утроенный межквартильный интервал).

анализе плотности заполнения пятна биочипа учитывали все клетки, включая моноциты). В панель биочипа входили антитела к CD2, CD3, CD5, CD7, CD10, CD16, CD19, CD20, CD22, CD38, CD45, CD56, HLA-DR (ООО «Сорбент», Москва, Россия) и CD4, CD8, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD25, CD33, CD41a, CD61, CD45RA, CD45RO, CD64, CD117, CD123, IgM и смесь мышиных IgG (изотипический отрицательный контроль) (eBioscience, Waltham, MA, США).

**Выделение лейкоцитов и их анализ.** Лейкоциты были выделены из венозной крови, взятой самотеком в *S-Monovette* 1,3 мл 106 mM цитрата натрия (pH 5,5); соотношение кровь:цитрат – 9:1, или *S-Monovette* 9 мл 1,6 мг EDTA/мл крови путем центрифугирования в градиенте плотности *Histopaque-1077* с последующей отмывкой и инкубацией с биочипом при 11 °С, как описано в [6, 7], с небольшими модификациями: выделенные мононуклеары инкубировали с биочипом в 100% *fetal calf serum* (*Sigma*, St. Louis, MO, США). Для анализа плотности связывания клеток на биочипе и их морфологии использовали микроскоп *Nikon Eclipse Ni*, объективы 20× и 100× и камеру *Nikon DS-Ri1*. Плотность связывания на разных анти-CDx была нормирована на плотность связывания в пятне анти-CD45RA.

**Статистическая обработка данных.** По результатам исследования вычислены медианы значений плотности связывания, минимальные (*Min*) и максимальные (*Max*) их значения (таблица 1). Сравнение значений плотности связывания новорожденных и взрослых по критерию Манна–Уитни проводили при помощи *OriginPro 8* (*OriginLab Corp.*, США). Значимыми различиями считали выборки при  $p < 0,017$  [12] для сравнения трех независимых групп данных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Популяционный состав лейкоцитов у доношенных и недоношенных новорожденных.** Популяционный состав лейкоцитов, то есть доли среди выделенных мононуклеаров лейкоцитов, положительных по различным CD-антигенам, определяли как плотность связывания лейкоцитов на биочипе с антителом к соответствующему CD-антигену, нормированную на плотность связывания с анти-CD45RA, как описано в [6, 7]. Усредненные данные по плотностям связывания лейкоцитов с антителами к различным CD-антигенам представлены в таблице 1.

Эти данные согласуются с результатами *C. Schultz* и соавт. [13], наблюдавших увеличение доли всех подгрупп Т-лимфоцитов в общем числе лимфоцитов от плода 21–37 недель гестации (по данным кордоцентеза) к периферической крови новорожденных 37–41 недели гестации

и далее к периферической крови здоровых взрослых доноров. Данные по процентному содержанию клеток, положительных по CD2+, CD3+, CD4+ и CD8+, среди мононуклеаров периферической крови доношенных новорожденных и здоровых взрослых практически совпадают с результатами по доле соответствующих клеток среди лимфоцитов периферической крови, полученных методом проточной цитометрии [9, 13] с учетом различий в нормировке. Значимо меньшая доля CD3+ клеток среди мононуклеаров периферической крови недоношенных новорожденных по сравнению с количеством CD5+ и CD7+ скорее всего объясняется пониженной экспрессией CD3 на поверхности Т-лимфоцитов у недоношенных и, как следствие, худшим связыванием с иммобилизованным на биочипе анти-CD3. Это предположение косвенно подтверждается тем фактом, что Т-лимфоциты периферической крови новорожденных продолжают пролиферировать (до 10% Т-лимфоцитов в периферической крови недоношенных новорожденных положительны по маркеру пролиферации Ki-67 [14]).

Данные о количестве CD4+ и CD8+ лимфоцитов в крови плода и новорожденных, представленные в литературе, противоречивы (см. обзор группы *Van Dongen* [15]). По нашим данным, доли CD4+ среди мононуклеаров периферической крови у недоношенных и доношенных новорожденных существенно не отличаются между собой и от аналогичных данных у здоровых взрослых. Уменьшение доли CD8+ клеток у доношенных новорожденных по сравнению с недоношенными можно объяснить значимым увеличением количества моноцитов в крови доношенных новорожденных (CD14+ и CD64+ мононуклеаров, см. таблицу 1) и связанным с этим изменением в нормировке. С учетом этого наши данные не противоречат результатам других групп [9, 13]. Иммунорегуляторный индекс у новорожденных выше, чем у взрослых, что соответствует данным литературы [15]. Доли CD19+, CD20+, CD22+ и IgM+ В-лимфоцитов среди мононуклеаров периферической крови доношенных и недоношенных новорожденных и здоровых взрослых значимо не отличаются. Доля CD38+ клеток существенно выше среди мононуклеаров периферической крови недоношенных новорожденных за счет популяции незрелых В-лимфоцитов [16]. Количество активированных CD25+ лимфоцитов с возрастом возрастает по мере обучения адаптивного иммунитета [15]. Данные, приведенные в таблице 1, также указывают на существенное повышение количества моноцитов в крови новорожденных, вызывающее повышение числа CD14+ и CD64+ клеток, что подтверждают и другие авторы [10]. Это, возможно, связано с взаимодействием иммунных систем плода и матери и соответствует активации лейкоцитов периферической крови беременных женщин в третьем

триместре беременности, приводящей к повышению количества CD14+ и CD64+ клеток [17]. Таким образом, данные, приведенные в *таблице 1*, согласуются с результатами других исследователей и в дальнейшем могут быть использованы в качестве референсных значений при скрининговых исследованиях крови новорожденных.

**Миелоидные и эритроидные предшественники в крови новорожденных.** Наличие гранулоцитарных предшественников в крови как доношенных, так и недоношенных новорожденных было показано многими группами [1, 10, 18]; кроме того, исследования показывают, что повышение количества незрелых гранулоцитов в крови может быть использовано в ранней диагностике неонатального сепсиса [2, 3, 18–20]. В то же время в указанных работах приведено отношение количества незрелых гранулоцитов либо к общему числу лейкоцитов, либо к количеству зрелых полиморфноядерных нейтрофилов, определяемое с помощью морфологического анализа мазка крови. Поскольку при анализе периферической крови с помощью клеточного биочипа анализируют только мононуклеарную фракцию клеток, для использования клеточного биочипа для анализа количества миелоидных предшественников требовалось предварительно определить референсные значения для данного метода. В крови как доношенных, так и недоношенных новорожденных миелоциты и метамиелоциты были обнаружены среди клеток, связавшихся с антителами к CD11b, CD11c, CD13, CD15, CD16, CD33, CD45, а эритроидные предшественники – среди клеток, связавшихся с антителами к CD11b, CD45 и CD235a (*рисунок*). Миелоциты были найдены у 7 из 9 недоношенных новорожденных, у всех доношенных

новорожденных и у 1 из 18 взрослых; метамиелоциты – у 7 из 9 недоношенных новорожденных, у всех 12 доношенных новорожденных и у 3 из 18 взрослых. В качестве потенциального параметра для скрининга мы выбрали относительное количество миелоидных и ядерных эритроидных предшественников среди мононуклеаров, связывающихся с антителами к CD11b, поскольку среди мононуклеаров, связавшихся с данным антителом, плотность миелоидных предшественников была максимальной. Полученные результаты представлены в *таблице 2*. Процент миелоцитов у недоношенных и доношенных новорожденных в среднем одинаков и может достигать 12–15% всех CD11b+ клеток. Процент метамиелоцитов составлял до 14% всех CD11b+ клеток у доношенных новорожденных по сравнению с 6% у недоношенных, однако данные различия статистически не значимы. Эритроидные предшественники в количестве до 1–2% были обнаружены у 1 из 9 недоношенных новорожденных, у 7 из 12 доношенных новорожденных и не обнаружены ни в одном из 18 образцов крови взрослых.

Таким образом, миелоциты и метамиелоциты были встречены в периферической крови здоровых новорожденных, но не обнаружены у взрослых; значимых различий в их количестве у доношенных и недоношенных новорожденных не отмечено.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Клеточный биочип позволяет исследовать как популяционный состав, так и морфологию лейкоцитов периферической крови и, учитывая невысокую его стоимость, пригоден для скрининговых исследований. В данной работе с помощью клеточного биочипа исследовано относительное содержание среди мононуклеаров периферической крови клеток, положительных по дифференцировочным антигенам, определяющих основные подгруппы лейкоцитов периферической крови. Получены референсные значения для доношенных и недоношенных новорожденных, которые могут быть использованы для выявления пациентов с тяжелым комбинированным иммунодефицитом. A. Narasimha и соавт. [20] по-

### Рисунок 1

Незрелые клетки в крови новорожденных; миелоциты (A), метамиелоциты (B) и эритроидные предшественники (C) обнаружены на биочипе в пятне анти-CD11b

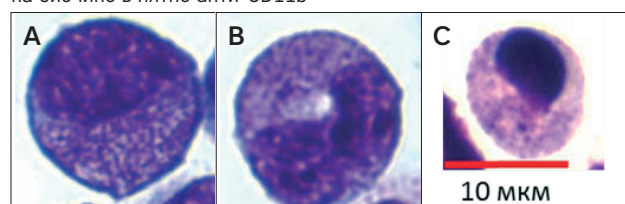


Таблица 2

**Миелоциты, метамиелоциты и эритроидные предшественники, связавшиеся на биочипе с анти-CD11b, в процентах от количества всех CD11b, в процентах от количества всех CD11b+ клеток (представлены медианы, минимальные (Min) и максимальные (Max) измеренные значения)**

Тип клеток	Новорожденные 22–32 нед. гестации (9 образцов)		Новорожденные 38–42 нед. гестации (12 образцов)		Взрослые (18 образцов)	
	медиана, %	Min–Max, %	медиана, %	Min–Max, %	медиана, %	Min–Max, %
Миелоциты	2	0–15	4	0,3–12	0	0–0,2
Метамиелоциты	1	0–6	5	0,5–14	0	0–0,5
Эритроидные предшественники	0	0–0,2	0,4	0–2	0	0–0



казали, что абсолютное и относительное количество незрелых гранулоцитарных предшественников – наиболее чувствительный фактор в ранней диагностике неонатального сепсиса. Поскольку частота развития неонатального сепсиса и риски смертельного исхода существенно повышаются у глубоко недоношенных новорожденных (8 случаев на 1000 для новорожденных с массой тела от 1000 до 1500 г по сравнению с 0,7–1 случаем на 1000 для доношенных новорожденных) [21], особое значение имеет исследование миелоидных предшественников в крови недоношенных новорожденных, впервые выполненное в этой работе. Полученные данные можно использовать как референсные значения при применении биочипа в каче-

стве скринингового метода в комплексной ранней диагностике неонатального сепсиса.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ 18-015-00272, работа Е.М. Кольцовой поддержана грантом Президента РФ для молодых кандидатов МК-913.2017.4.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

#### ORCID

**Khvastunova A.N.** ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7117-0168>

**Balashova E.N.** ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3741-0770>

**Kuznetsova S.A.** ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5946-0026>

## Литература

- Xanthou M. Leucocyte blood picture in ill newborn babies. *Archives of Disease in Childhood* 1972; 47: 741.
- Newman T.B., Puopolo K.M., Wi S., Draper D., Escobar G.J. Interpreting complete blood counts soon after birth in newborns at risk for sepsis. *Pediatrics* 2010; 126 (5): 903–9.
- Mikhael M., Brown L.S., Rosenfeld C.R. Serial neutrophil values facilitate predicting the absence of neonatal early-onset sepsis. *The Journal of pediatrics* 2014; 164 (3): 522–8.
- Umlauf V.N., Dreschers S., Orlikowsky T.W. Flow cytometry in the detection of neonatal sepsis. *International journal of pediatrics* 2013, article ID 763191.
- Verbsky J.W., Baker M.W., Grossman W.J., Hintermeyer M., Dasu T., Bonacci B., DeSantes K. Newborn screening for severe combined immunodeficiency; the Wisconsin experience (2008–2011). *Journal of clinical immunology* 2012; 32 (1): 82–8.
- Khvastunova A.N., Kuznetsova S.A., Al-Radi L.S., Vylegzhaniina A.V., Zakirova A.O., Fedyanina O.S., et al. Anti-CD antibody microarray for human leukocyte morphology examination allows analyzing rare cell populations and suggesting preliminary diagnosis in leukemia. *Sci Rep* 2015; 5: 12573.
- Хвастунова А.Н., Аль-Ради Л.С., Капранов Н.М., Федянина О.С., Горгидзе Л.А., Луговская С.А. и др. Использование клеточного биочипа в диагностике волосатоклеточного лейкоза. *Онкогематология* 2015; 1: 37–45.
- Rodak B.R., Fritsma G.A., Keohane E.M. *Hematology. Clinical principles and applications*. 4th ed. Elsevier, Saunders; 2012.
- Shearer W.T., Rosenblatt H.M., Gelman R.S., Oyomopito R., Plaeger S., Stiehm E.R., Yogev R. Lymphocyte subsets in healthy children from birth through 18 years of age: the Pediatric AIDS Clinical Trials Group P1009 study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003; 112 (5): 973–80.
- Xanthou M. Leucocyte blood picture in healthy full-term and premature babies during neonatal period. *Archives of Disease in Childhood* 1970; 45: 242.
- Lloyd B.W., Oto A. Normal values for mature and immature neutrophils in very preterm babies. *Archives of disease in childhood* 1982; 57 (3): 233–5.
- Гржибовский А.М. Анализ трех и более независимых групп количественных данных. *Практикум. Экология человека* 2008; 3: 50–8.
- Schultz C., Reiss I., Bucsky P, Göpel W., Gembruch U., Ziesenitz S., Gortner L. *Maturational Changes of Lymphocyte Surface Antigens in Human Blood: Comparison between Fetuses, Neonates and Adults*. *Biol Neonate* 2000; 78: 77–82.
- Schonland S.O., Zimmer J.K., Lopez-Benitez C.M., Widmann T., Ramin K.D., Goronzy J.J., Weyand C.M. Homeostatic control of T-cell generation in neonates. *Blood* 2003; 102: 1428–34.
- de Vries E., de Groot R., de Bruin-Versteeg S., Comans-Bitter W.M., Van Dongen J.J.M. Analysing the developing lymphocyte system of neonates and infants. *European journal of pediatrics* 1999; 158 (8): 611–7.
- Morbach H., Eichhorn E.M., Liese J.G., Girschick H.J. Reference values for B cell subpopulations from infancy to adulthood. *Clin Exp Immunol* 2010; 162 (2): 271–9.
- Sacks G.P., Studena K., Sargent I.L., Redman C.W. Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 1998; 179 (1): 80–6.
- Manroe B.L., Weinberg A.G., Rosenfeld C.R., Browne R. The neonatal blood count in health and disease. I. Reference values for neutrophilic cells. *The Journal of pediatrics* 1979; 95 (1): 89–98.
- Rodwell R.L., Leslie A.L., Tudehope D.I. Early diagnosis of neonatal sepsis using a hematologic scoring system. *The Journal of pediatrics* 1988; 112 (5): 761–7.
- Narasimha A., Kumar M.H. Significance of hematological scoring system (HSS) in early diagnosis of neonatal sepsis. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion* 2011; 27 (1): 14–7.
- Simonsen K.A., Anderson-Berry A.L., Delair S.F., Davies H.D. Early-onset neonatal sepsis. *Clinical microbiology reviews* 2014; 27 (1): 21–47.