

Оглавление

Предисловие к изданию на русском языке	7
Предисловие к изданию на английском языке.....	9
Список сокращений и условных обозначений	11
Глава 1. Клинический анализ крови и мазок крови у доношенных и недоношенных новорожденных.....	13
1.1. Введение	13
1.2. Продукция и развитие эритроцитов у плода и новорожденного	18
1.3. Лейкоциты у плода и новорожденного.....	33
1.4. Тромбоциты и мегакарициты у плода и новорожденного.....	39
1.5. Практические трудности в интерпретации анализов крови и мазков крови новорожденных	43
Глава 2. Нарушения в системе эритроцитов: анемия, желтуха, полицитемия и цианоз.....	47
2.1. Анемия новорожденных.....	47
2.2. Полицитемия новорожденных	103
2.3. Гематологические причины цианоза.....	104
2.4. Принципы трансфузии эритроцитов у новорожденных	104
Иллюстрирующие случаи	106
Глава 3. Неонатальные инфекции и нарушения в системе лейкоцитов	131
3.1. Аномалии лейкоцитов при системных заболеваниях новорожденных	131
3.2. Нейтропения у новорожденных	152
3.3. Гематологические особенности новорожденных с синдромом Дауна	162
3.4. Врожденный лейкоз	164
Иллюстрирующие случаи	179
Глава 4. Нарушения в системе тромбоцитов и системе свертывания крови, тромбоз и переливание крови.....	187
4.1. Тромбоцитопения, общий обзор	187
4.2. Причины тромбоцитопении у новорожденных: практическая классификация, основанная на возрасте ребенка в момент возникновения тромбоцитопении.....	188
4.3. Состояния, ведущие к клинически значимой тромбоцитопении у новорожденных.....	196

4.4. Исследование тромбоцитопении у новорожденных.....	218
4.5. Ведение тромбоцитопении у новорожденных	218
4.6. Нарушение функции тромбоцитов.....	220
4.7. Тромбоцитоз.....	222
4.8. Нарушения свертывания крови	224
4.9. Тромбоз.....	228
4.10. Основные принципы трансфузии тромбоцитов и компонентов плазмы новорожденным.....	231
Иллюстрирующие случаи	233
Предметный указатель.....	241

Список литературы ко всем главам доступен по ссылке:
<http://books-map.net/redirect/6929.html>



ГЛАВА 1

Клинический анализ крови и мазок крови у доношенных и недоношенных новорожденных

1.1. Введение

Гемопоз (кроветворение) — это процесс, обеспечивающий продукцию гемопоэтических клеток на протяжении всей жизни. Гемопоз у новорожденных существенно отличается от гемопоза у детей более старшего возраста и у взрослых. Эти различия отражают как онтогенез кроветворения во время внутриутробного развития плода, так и особые взаимоотношения между плодом и матерью, а также влияние процесса рождения как такового. Последовательные изменения в местах гемопоза и его регуляции во время развития также помогают объяснить природу многих гематологических проблем у новорожденных.

Краткий обзор кроветворения в онтогенезе

Кроветворение у человека начинается в желточном мешке между 2-й и 3-й неделями после оплодотворения (**рис. 1.1**) [1, 2]. Этот этап называют первичным гемопозом. Исследования, проведенные на других видах, в частности на мышах, показывают, что преобладающими видами клеток, образующихся в желточном мешке, являются эритроидные клетки и макрофаги [2, 3]. Несмотря на то что мегакариоциты и лимфоидные клетки также могут происходить из желточного мешка, в настоящее время принято считать, что истинные долгоживущие гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) возникают из специализированного эндотелия («гемогенный» эндотелий), локализующегося на вентральной стенке дорсальной аорты в области, известной как аорто-гонадо-мезонефрос [4–6]. У человека кроветворение в аорто-гонадо-мезонефросе начинается примерно на 5-й неделе после оплодотворения и известно как дефинитивный гемопоз [6–8]. Кроветворение в стенке аорты носит временный характер, предположительно потому, что в этой области отсутствует достаточное физическое пространство и специализированное микроокружение для поддержки экспансии и дифференцировки популяций ГСК и прогениторных клеток, необходимых для удовлетворения потребностей растущего плода.

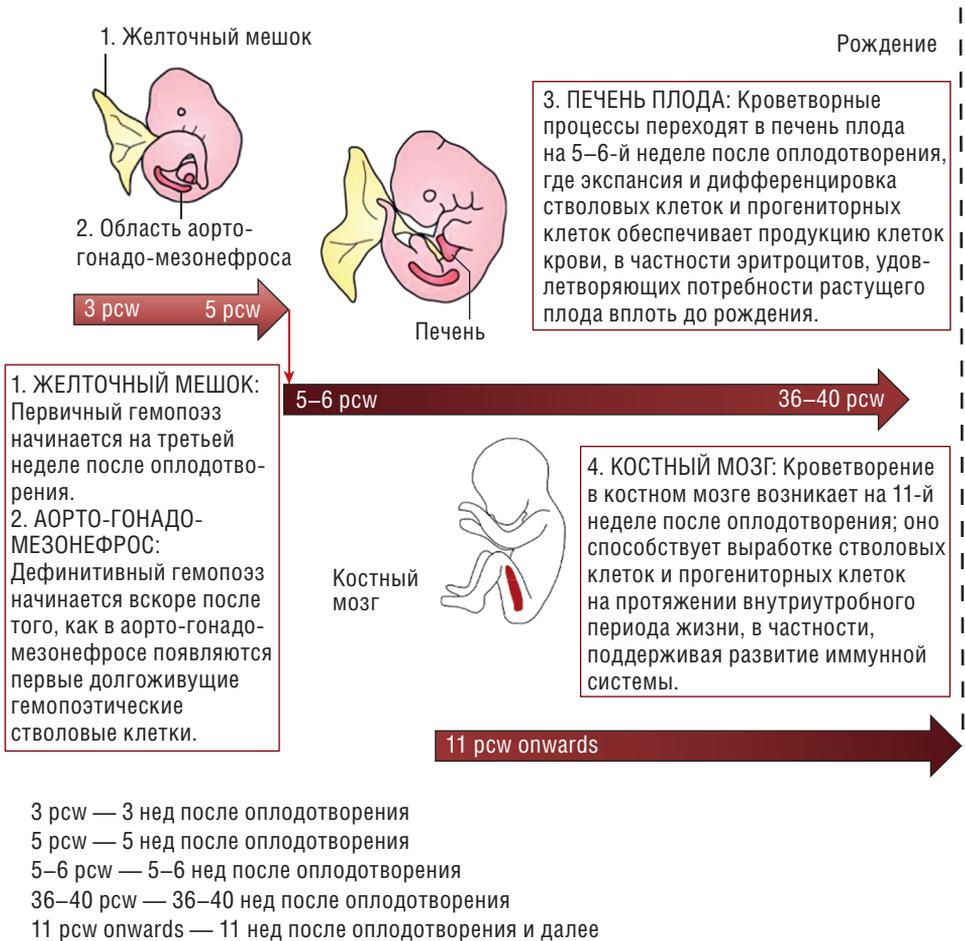


Рис. 1.1. Кроветворение у человека в эмбриональном и плодном периодах онтогенеза. Основано на [1, 2]

К 6-й неделе после оплодотворения ГСК и прогениторные клетки мигрируют в печень плода [8, 9], которая остается основным местом продукции клеток крови на протяжении всего периода внутриутробного развития [10, 11], и в аорто-гонадо-мезонефросе кроветворение прекращается. Первые признаки кроветворения в костном мозге обнаруживаются примерно на 11-й неделе после оплодотворения [8, 12]. Хотя костный мозг плода способен продуцировать клетки всех линий, становится очевидным, что преобладающими видами клеток в костном мозге являются В-лимфоциты и их предшественники вместе с гранулоцитами, моноцитами и их предшественниками. Несмотря на то что эритропоэз и мегакариопоэз происходят в костном мозге плода начиная с конца I триместра, большая часть красных клеток крови и мегакариоцитов образуется в печени плода вплоть до доношенного срока беременности [8]. Таким образом, у недоношенных новорожденных печень остается основным органом кроветворения при рождении и некоторое время после рождения;

вероятно, это обстоятельство служит одним из факторов ряда заболеваний, включая гематологические нарушения, наблюдаемые у новорожденных с синдромом Дауна (см. стр. 162–169 и 206).

Свойства фетальных гемопоэтических стволовых клеток и прогениторных клеток

Значительный прогресс в иммунологических и молекулярных технологиях, предназначенных для исследования ГСК и прогениторных клеток, позволил нам составить намного более ясное представление о гемопоэтических процессах, протекающих во внутриутробном периоде, и их отличиях от кроветворения у взрослых. Фетальные ГСК, как и ГСК у взрослых, находятся на вершине гемопоэтической иерархии (рис. 1.2). Деление ГСК происходит либо через процесс «самообновления», когда они продуцируют больше ГСК (что иногда называют симметричным делением клеток), либо через асимметричное деление, когда одна из двух дочерних клеток дифференцируется в клетки-предшественники, которые, в свою очередь, дают начало зрелым клеткам всех гемопоэтических линий (см. рис. 1.2) [9].

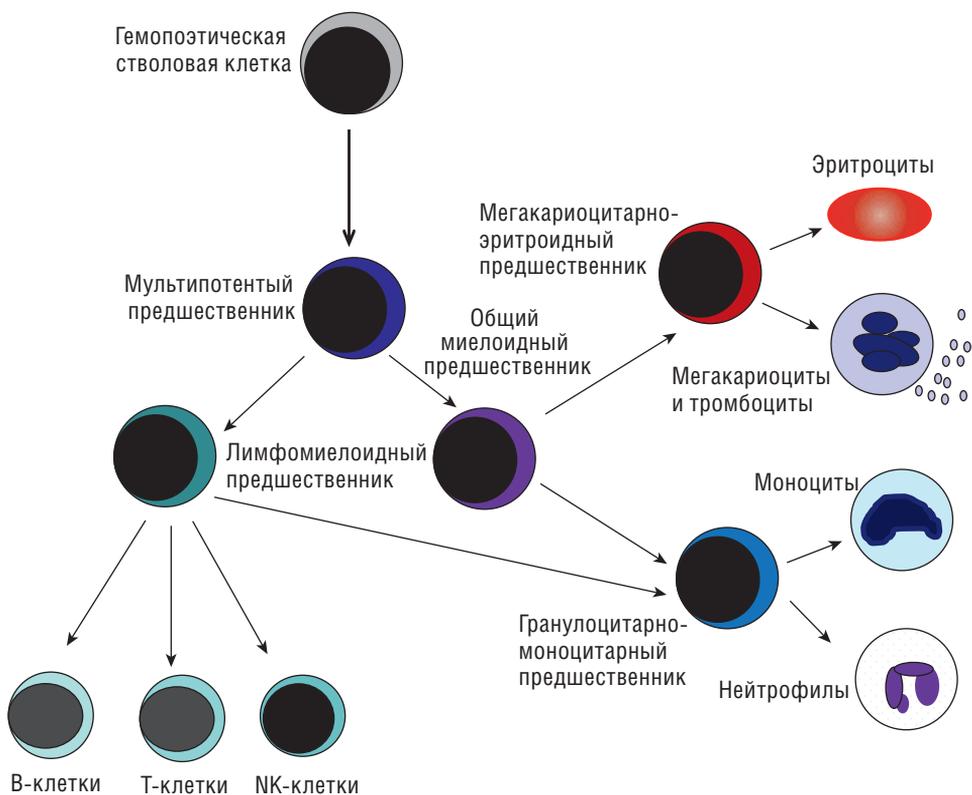


Рис. 1.2. Упрощенная схема иерархии фетальных стволовых клеток и прогениторных клеток, показывающая дифференцировку мультипотентных и коммитированных прогениторных клеток из гемопоэтических стволовых клеток. Детали специфичного для плода пути дифференцировки предшественников В-линии показаны на рис. 1.3. Основано на [9]

Гемопоэтические стволовые клетки плода

Исследования, проведенные на мышах и позднее у человека, показывают, что ГСК плода (фетальные ГСК) существенно отличаются от ГСК в костном мозге взрослого [9, 13–16]. Выяснение природы различий между ГСК плода и взрослого человека, а также молекулярных механизмов, поддерживающих эти различия, вероятно, поможет нам понять многие гематологические проблемы, затрагивающие новорожденных, и потенциально откроет новые подходы к лечению. Например, необходимость быстрой экспансии гемопоэтических клеток соответствовать потребностям растущего плода означает, что количество фетальных ГСК должно увеличиваться быстрее, чем в остальные периоды жизни. Более того, поскольку ГСК отвечают за кроветворение на протяжении всей жизни, процесс экспансии ГСК должен быть точно отрегулирован, чтобы предотвратить неконтролируемую пролиферацию (и риск развития гематологической злокачественности) с одной стороны или «истощение» ГСК (и риск развития недостаточности костного мозга) с другой. Считается, что эти свойства лежат в основе особой распространенности определенных гематологических заболеваний плода и новорожденных, включая анемию Даймонда–Блекфена (ДБА) и ювенильный миеломоноцитарный лейкоз (ЮММЛ) [17].

Существуют различия как во внутренних свойствах ГСК, так и в регуляторных сигналах, посылаемых гемопоэтическим микроокружением в течение внутриутробного периода жизни [16]. Одной из специфических внутренних особенностей фетальных ГСК является повышенная доля активно циркулирующих и подвергающихся процессу «самообновления» ГСК, что приводит к экспансии пула долгоживущих ГСК во внутриутробном периоде жизни [18]. Эта особенность фетальных ГСК резко контрастирует с ГСК взрослых, которые в основном находятся в состоянии покоя и редко вступают в клеточный цикл [9, 16, 18]. Увеличение количества ГСК у плода, вероятно, происходит главным образом в печени, а не в костном мозге [16, 19]. Это объясняет тот факт, что многие гематологические нарушения у новорожденных сопровождаются гепатомегалией. Следующий аспект, характеризующий ГСК плода, — они обуславливают более высокий процент эритроидных и мегакариоцитарных предшественников по сравнению с ГСК взрослого, что отражает потребность плода в большем количестве эритроцитов и важность адекватного количества тромбоцитов для поддержания целостности сосудов [9, 17]. И наконец, ГСК плода проявляют различную чувствительность к гемопоэтическим факторам роста, таким как инсулиноподобные факторы роста, и различную зависимость от них по сравнению со взрослыми клетками [20, 21], а также различный паттерн выхода зрелых клеток [9, 16, 18]. Как отражение этого, ГСК плода также имеют особые программы экспрессии генов [13, 15–17, 22–26], которые, как было недавно установлено, играют важную роль в лейкемической трансформации, приводящей к острому лимфобластному лейкозу (ОЛЛ) младенцев [27].

Фетальные гемопоэтические прогениторные клетки

Различные типы гемопоэтических прогениторных клеток, существующих во внутриутробном периоде жизни, представлены на **рис. 1.2** и **1.3**. Общая схема дифференцировки ГСК схожа у плода и взрослого. Однако недавние

исследования выявили специфичных для плода лимфоидных предшественников, включающих ранних лимфоидных предшественников и ПреПроВ-предшественников (PreProV progenitors), которые могут играть важную роль не только в быстром повышении продукции В-клеток в течение II триместра, но также выступать в качестве мишеней лейкозной трансформации при ОЛЛ младенцев и детей [9, 27–29]. Ранние лимфоидные предшественники могут быть обнаружены на очень раннем сроке внутриутробного развития (примерно с 6-й недели после оплодотворения — в печени плода и примерно с 11-й недели после оплодотворения — в костном мозге), но очень редко в гемопоэтических тканях взрослого [29]. Их определяют как по их иммунофенотипу ($CD34^+CD127^+CD19^-CD10^-$), так по их способности производить В-, Т- и NK-клетки, а также небольшое количество миелоидных клеток [8, 29]. ПреПроВ-предшественники — это один из двух типов коммитированных предшественников В-клеток во внутриутробном периоде жизни; они не имеют экспрессии молекулы CD10 и, подобно ранним лимфоидным предшественникам, очень редко встречаются во взрослом костном мозге. Напротив, второй тип предшественников В-клеток, ПроВ-предшественники, — $CD10^+$ являются основным и единственным типом предшественников В-клеток, которые могут быть обнаружены во взрослом костном мозге [29]. Вероятно, ПроВ-предшественники являются нижестоящими по отношению к ПреПроВ в схеме В-лимфоидной дифференцировки, и в соответствии с этим, как было показано, они претерпевают полную $V_H-D_H-J_H$ -перестройку локусов тяжелой цепи иммуноглобулина (Ig) H, в отличие от ранних лимфоидных предшественников и ПреПроВ-предшественников, которые демонстрируют только частичную (D_H-J_H) IgH перестройку [8]. Причины существования двух типов предшественников В-клеток и единственной клетки ранних лимфоидных предшественников во внутриутробном периоде неизвестны, но предположительно есть два пути продукции фетальных В-клеток, которые могут играть различную физиологическую роль.

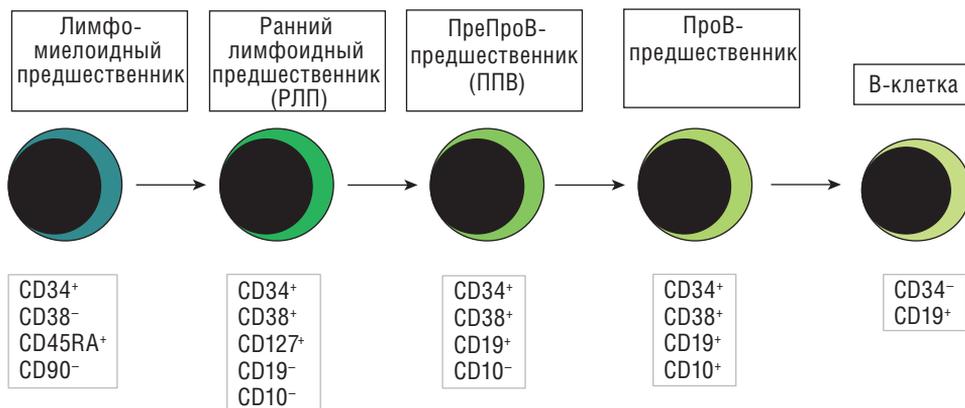


Рис. 1.3. Иммунофенотипически определенные популяции предшественников траектории дифференцировки В-клеток у человеческого плода. Маркеры клеточной поверхности, которые были использованы для определения этих популяций, приведены под каждым клеточным типом. Основано на [9]

1.2. Продукция и развитие эритроцитов у плода и новорожденного

Нормальный эритропоэз, то есть продукция красных клеток крови, имеет решающее значение для раннего развития эмбриона и плода. Большая часть наших знаний о клетках и генах, участвующих в этом процессе, получена в экспериментальных моделях на мышах или из анализа наследственных анемий, в особенности у детей. Эритроциты плода и новорожденного отличаются от эритроцитов взрослого почти по всем своим специфическим особенностям. Эти различия даже более выражены у недоношенных новорожденных и имеют непосредственное отношение к пониманию нами анемий у новорожденных. Особенности эритропоэза во внутриутробном периоде обобщены в **табл. 1.1**, и те из них, которые важны для понимания анемий у новорожденных, обсуждаются ниже.

Таблица 1.1. Особенности эритроцитов плода и новорожденного по сравнению с эритроцитами взрослого

Продукция гемоглобина (Hb)	Эмбриональные Hb (цепи глобина): <ul style="list-style-type: none"> • Гоуэр 1 ($\zeta_2\epsilon_2$); • Гоуэр 2 ($\alpha_2\epsilon_2$); • Портленд ($\zeta_2\gamma_2$). Фетальный Hb (цепи глобина): <ul style="list-style-type: none"> • фетальный Hb ($\alpha_2\gamma_2$). Hb взрослого (цепи глобина): <ul style="list-style-type: none"> • Hb A ($\alpha_2\beta_2$) ниже; • Hb A₂ ($\alpha_2\delta_2$) существенно ниже
Мембрана эритроцита	Обеспечивает резистенцию к осмотическому лизису. Измененная экспрессия рецепторов (например, инсулина). Повышенное содержание липидов и измененный фосфолипидный профиль. Более подвержена окислительному повреждению. Измененный транспорт глюкозы. Слабая экспрессия A, B и I антигенов группы крови. Повышенная вариабельность формы эритроцитов (пойкилоцитоз). «Ямчатые» эритроциты из-за гипоспленизма
Метаболизм эритроцитов	Гликолитический путь: <ul style="list-style-type: none"> • повышенное потребление глюкозы; • измененные уровни ферментов, например низкий уровень 2,3-дифосфоглицерата и низкая активность фосфофруктокиназы. Пентозофосфатный путь: <ul style="list-style-type: none"> • повышенная восприимчивость к окислительно-индуцированным повреждениям; • низкая активность глутатионпероксидазы; • пониженная способность вырабатывать никотинадениндинуклеотидфосфат

Продукция эритропоэтина у плода и новорожденного

Основным цитокином, который отвечает за регуляцию эритропоэза у плода и новорожденного, а также у взрослого, является эритропоэтин (ЭПО) [30]. Поскольку ЭПО не проникает через плаценту, ЭПО-опосредованная регуляция фетального эритропоэза находится преимущественно под контролем плода. Главным местом продукции ЭПО у плода является печень [31], и единствен-

ным стимулом к его продукции в физиологических условиях служит гипоксия с анемией или без нее [33]. В нормоксических условиях ЭПО вырабатывается мало или вообще не вырабатывается, но гипоксия очень быстро запускает экспрессию до 200 крат в течение 30 мин, по крайней мере в клеточных линиях гепатоцитов [33]. Данный факт объясняет высокие уровни ЭПО у плодов тех матерей, которые страдают сахарным диабетом или артериальной гипертензией, и у плодов с задержкой внутриутробного развития (ЗВУР) или врожденным пороком сердца «синего» типа [34]. ЭПО также повышается при анемии плода любого происхождения, включая гемолитическую болезнь плода и новорожденного (ГБН). Это обстоятельство, а также переключение продукции ЭПО из печени плода в почки новорожденного может частично объяснить физиологическую задержку в запуске продукции новых эритроцитов, которая часто не проявляется до 2-го месяца жизни даже у здоровых младенцев.

Синтез гемоглобина и продукция эритроцитов у плода и новорожденного

Скорость синтеза Hb и продукции эритроцитов резко падает сразу же после рождения и остается низкой в течение первых 2 нед жизни, вероятно, как ответная реакция на внезапное повышение оксигенации тканей при рождении [35]. У здоровых новорожденных физиологическое увеличение продукции эритроцитов начинается спустя несколько недель, так что к 3-му месяцу жизни у здорового младенца независимо от гестационного срока при рождении вырабатывается до 2 мл эритроцитарной массы ежедневно [35]. Исследования показывают, что у недоношенных новорожденных в течение первых 2 мес жизни максимальная скорость продукции эритроцитов может быть приближена к 1 мл/день. Эти данные основаны на том наблюдении, что недоношенные младенцы, получающие терапию ЭПО, не способны поддерживать концентрацию Hb при взятии более чем 1 мл венозной крови в день в диагностических целях, но если потеря крови при заборе образцов меньше, то концентрация Hb поддерживается [36].

Изменения в синтезе цепи глобина, связанные с гестацией, у человеческого эмбриона, плода и новорожденного были подробно изучены; эти данные приведены на **рис. 1.4** [37]. Первые Hb, известные как эмбриональные, синтезируются приблизительно на 2-й или 3-й неделе после оплодотворения преимущественно в кровяных островках желточного мешка эритроблестами и эритроцитами, которые здесь вырабатываются. Существует три типа эмбриональных Hb (см. **табл. 1.1**). ζ - или α -глобины, закодированные смежными генами в локусе α -глобина на хромосоме 16, комбинируются с ε - или γ -глобинами, закодированными генами в локусе β -глобина на хромосоме 11, для продукции Hb Гоуэр 1 (Gower 1) ($\zeta_2\varepsilon_2$), Hb Гоуэр 2 (Gower 2) ($\alpha_2\varepsilon_2$) и Hb Портленд (Portland) ($\zeta_2\gamma_2$).

При нормальном развитии человека синтез эмбриональных Hb является временным и в значительной степени ограничен эритроблестами, происходящими из желточного мешка, которые имеют больший размер, чем те, что образуются после начала дефинитивного гемопоэза в аорто-гонадо-мезонефрозе и печени плода (**рис. 1.5** и **1.6**), и экспрессируют различные транскрипционные

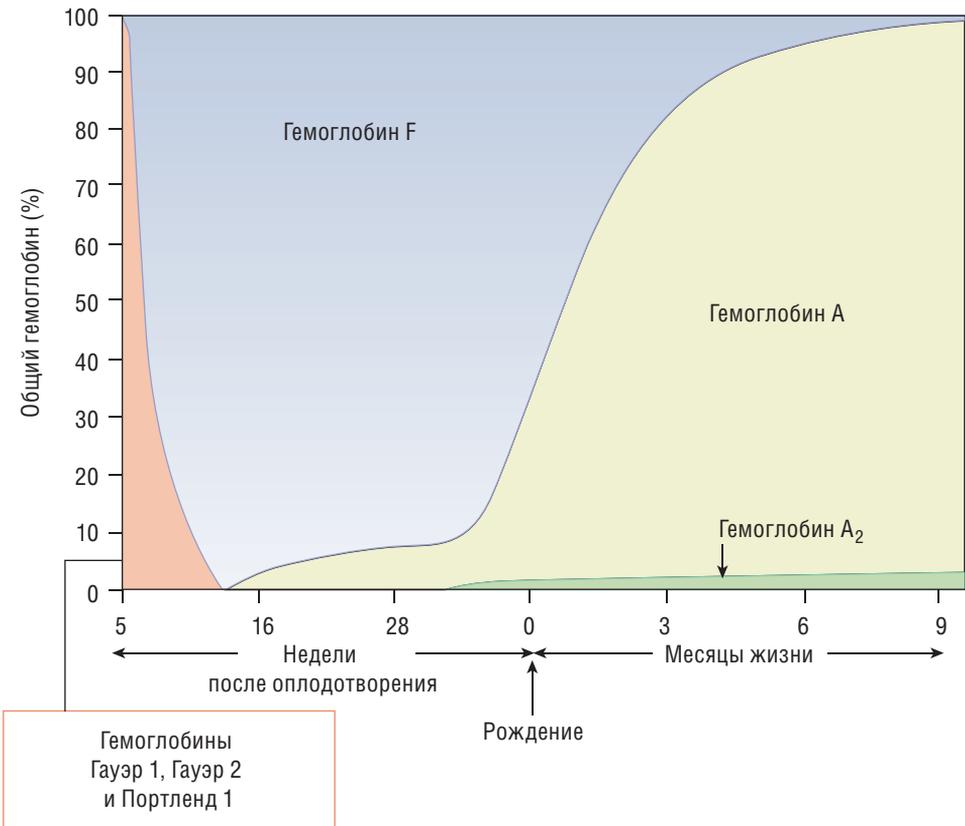


Рис. 1.4. Места и скорости синтеза различных гемоглобинов в эмбриональном и фетальном периодах, а также в период младенчества, представленные в виде диаграммы. Из Bain (2020) [37]

факторы и эпигенетические программы. С 4-й или 5-й недели после оплодотворения эритробласты и эритроциты содержат преимущественно Hb F ($\alpha_2\gamma_2$), который остается основным Hb на протяжении внутриутробного периода жизни. Факторы, контролирующие переход с первичного гемопоэза в definitivoный, еще не ясны, поскольку изучение данного процесса на столь раннем этапе развития затруднительно. Большая ясность в понимании механизмов, которые в норме подавляют экспрессию ζ -глобина, могла бы открыть новые пути в лечении большой α -талассемии [38] — значимой причины внутриутробной и ранней неонатальной смерти (см. главу 2).

Продукция взрослого Hb (Hb A; $\alpha_2\beta_2$) начинается в течение II триместра и сохраняется на низких уровнях вплоть до 30–32-й недели после оплодотворения, когда продукция Hb A начинает увеличиваться с одновременным снижением продукции Hb F. В итоге средний уровень Hb F у доношенных младенцев составляет 70–80%, а Hb A — 25–30% [39, 40]. После рождения уровень Hb F падает до приблизительно 2% к возрасту 12 мес с соответствующим повышением уровня Hb A. Молекулярный контроль перехода от Hb F к Hb A называют

переключением глобина. В последние годы было проведено масштабное исследование генов, участвующих в переключении глобина (например, *BCL11A*), с целью определения задержки или обратного физиологического переключения после рождения и, таким образом, поддержания выработки Hb F у детей, страдающих тяжелыми нарушениями β -глобина, такими как серповидно-клеточная анемия или большая талассемия [41, 42].

Сроки переключения глобина зависят от периода после оплодотворения, а не от постнатального возраста. Фактически у доношенных младенцев есть небольшие изменения уровня Hb F в первые 15 сут после рождения, но у недоношенных младенцев, которым не проводили гемотрансфузии, Hb F может сохраняться на одних тех же уровнях в течение первых 6 нед жизни до того, как продукция Hb A начнет повышаться. Эта задержка в продукции Hb A (то есть переключение с продукции γ -глобина на продукцию β -глобина) может затруднить диагностику нарушений β -глобина в неонатальном периоде, особенно у недоношенных младенцев. В противоположность этому нарушения α -глобина почти всегда проявляются после рождения, поскольку цепи α -глобина необходимы для продукции всех, кроме самых ранних эмбриональных, Hb (см. **рис. 1.4** и **табл. 1.1**).

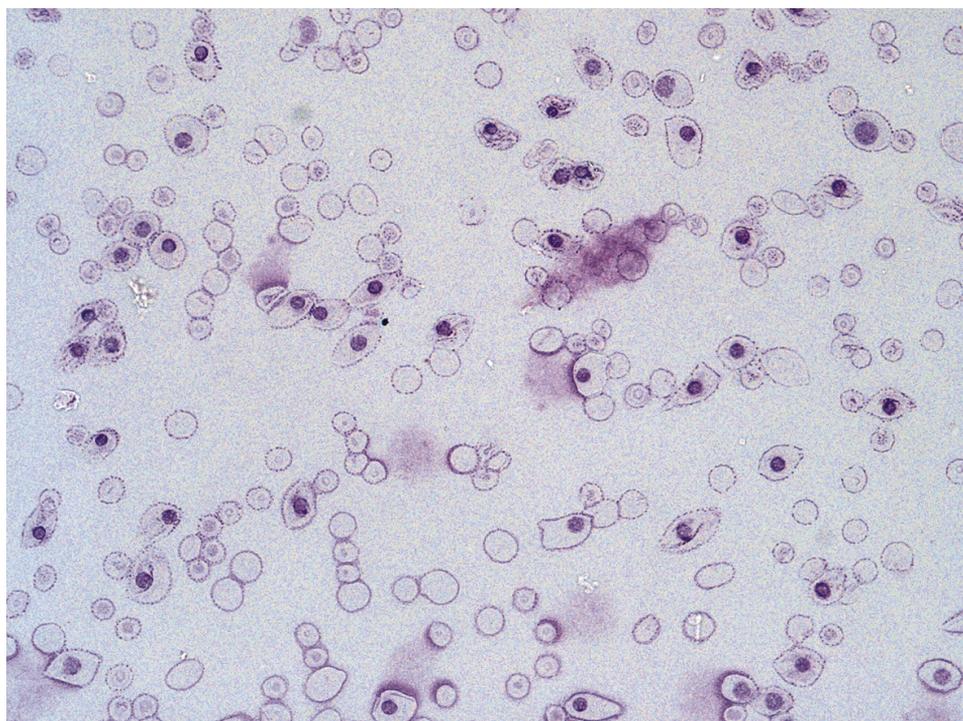


Рис. 1.5. Мазок крови плода, I триместр (8 нед), демонстрирующий крупный размер эритробластов (по сравнению с **рис. 1.6**), типичный для происходящих из желточного мешка. Эти эритробласты в основном содержат эмбриональные глобины. Обратите внимание на высокую долю ядросодержащих эритроцитов и отсутствие белых клеток крови. Окраска по Мая–Грюнвальду–Гимзе, $\times 40$