

тремя основными формами. Этот процесс, в первую очередь, зависит от изменений рН крови (Rudenko, 2010).

Нарушения маточно-плацентарного и плодово-плацентарного кровообращения приводят к антенатальному изменению гомеостаза и кислородного баланса, появлению ацидоза у плодов (Dodd et al., 2017; O'Sullivan et al., 2019), который является маркером степени тяжести перинатальной гипоксии у новорожденных в раннем неонатальном периоде (Pegone et al., 2012). Пусковым моментом выявленных изменений морфологии и структуры мембран эритроцитов являлась гипоксия, при которой уже антенатально происходят нарушения структуры мембран эритроцитов.

При рождении в остаточной пуповинной крови определяются изменения, характеризующие степень выраженности ацидоза (по величине рН) и полиморфизм эритроцитов. У детей, имеющих низкое значение рН крови, основные морфологические формы эритроцитов – это планоциты и стоматоциты, но количество последних позволяет нам говорить о значимом стоматоцитозе. Течение раннего неонатального периода у новорожденных, перенесших перинатальную гипоксию, характеризовалось выраженным пойкилоцитозом, нестабильностью мембран эритроцитов, которые проявлялись изменениями высот h_1 и h_2 , отражающие мембранный фликкеринг и изгибы цитоскелета. Такая приспособительная реакция, вероятно, обеспечивает сохранение функциональной способности эритроцита при гипоксии.

Период ранней адаптации новорожденных характеризовался нестабильностью высот h_1 и h_2 мембраны эритроцитов, вариабельностью морфологических форм на протяжении всего неонатального периода. К окончанию раннего неонатального периода у новорожденных обеих групп состав морфологических форм эритроцитов мало отличается. Количество планоцитов уменьшается, появляются дискоциты, но сохраняется стоматоцитоз.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ацидоз, как проявление перинатальной гипоксии, оказывает воздействие на мембрану эритроцитов новорожденных. Проявление адаптационных изменений в виде изменения высот и пространственных периодов поверхностей мембран эритроцитов служит ответной реакцией на возникшие изменения кислотно-основного состояния крови. Вероятно, стремление клеток сохранить свои функциональные способности является приспособительной реакцией.

Течение раннего периода адаптации у детей, перенесших гипоксию, характеризуется большой ва-

риабельностью морфологических форм, уменьшением количества планоцитов и появлением большого количества измененных и переходных форм эритроцитов. Выявленные изменения свидетельствуют об активности процессов на мембране эритроцитов.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Государственного задания № FZWM-2020-0010 Балтийского федерального университета им. И. Канта и Государственного задания № FGWS-2021-0003 Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии им. В.А. Неговского (Москва).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Исследование было одобрено Этическим комитетом Федерального научно-клинического центра реаниматологии и реабилитологии (протокол № 2/20 от 10.06.2020) и Независимым этическим комитетом Центра клинических исследований ФГАОУ ВО “БФУ им. И. Канта” (выписка из Протокола заседания НЭК № 14 от 27.10.2020 г.) и выполнено в ГБУЗ “Родильный дом Калининградской области № 1”. Забор крови осуществляли сотрудники отделения реанимации новорожденных в рамках запланированного клинического обследования. Дополнительного забора крови не производили. Информированное согласие законных представителей ребенка на проведение медицинских манипуляций и исследования находится в истории развития новорожденного. Все стадии исследования соответствуют законодательству Российской Федерации, международным этическим нормам и нормативным документам исследовательских организаций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Белевич Е.И., Костин Д.Г., Слобожанина Е.И. 2015. Активность каспазы-3 в эритроцитах человека при окислительном стрессе. Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия биол. наук. № 2. С. 34. (Bialevich E.I., Kostin D.G., Slobozhanina E.I. 2015. Caspase-3 activity in human erythrocytes under oxidative stress. Izvestiya National'noy Akademii Nauk Belarusi. Seriya boil. Nauk. № 2. P. 34.)
- Ващенко В.И., Вильянинов В.Н. 2019. Эриптоз (квазиаптоз) эритроцитов человека и его роль в лекарственной терапии. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. Т. 17. № 3. С. 5. (Vaschenko V.I., Vil'yaninov V.N. 2019. Eryptosis (quasi-apoptosis) of the human red blood cells. Its role in medicinal therapy. Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy. V. 17.

- Р. 5.)
<https://doi.org/10.17816/RCF1735-38>
- Володин Н.Н. 2019. Неонатология. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа. (Volodin N.N. 2019. Neonatology: National guidelines. Short edition. M.: GEOTAR-Media.)
- Кононенко В.Л. 2009. Фликкер эритроцитов. 1. Теоретические модели и методы регистрации. Биологические мембраны. Т. 26. № 5. С. 352. (Kononenko V.L. 2009. Red blood cell flicker. 1. Theoretical models and methods of registration. Biol. membranes. V. 26. № 5. P. 352)
- Льюис С.М., Бэйн Б., Бэйтс И. 2009. Практическая и лабораторная гематология. М.: ГЭОТАР-МЕД. (L'juis S.M., Bjejn B., Bjejts I. 2006. Practical gematology. Churchill Livingstone.)
- Мельченко Е.А. 2015. Применение атомно-силовой микроскопии при исследовании биофизических свойств мембран эритроцитов. Наука. Инновации. Технологии. № 3. С. 131. (Melchenko E.A. 2015. Application of atomic-power microscopy at research of biophysical properties of red blood cells membranes. Science. Innovations. Technologies. № 3. P. 131)
- Мороз В.В., Голубев А.М., Афанасьев А.В., Кузовлев А.Н., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Черныш А.М. 2012. Строение и функция эритроцита в норме и при критических состояниях. Общая реаниматология. Т. 8. № 1. С. 52. (Moroz V.V., Golubev A.M., Afanasyev A.V., Kuzovlev A.N., Sergunova V.A., Gudkova O.E., Chernysh A.M. 2012. Stroenie i funktsiya eritrotsita v norme i pri kriticheskikh sostoyaniyakh. Obshchaya Reanimatologiya. V. 8. P. 52.)
- Мушкхамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л. 2007. Молекулярная биология. Учебное пособие для студентов мед. вузов. М.: ООО Медицинское информационное агентство. (Mushkambarov N.N., Kuznetsov S.L. 2007. Molecular biology. Study guide for medical students. Moscow: Med. Inform. Agency.)
- Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А., Быстрицкий Л.Д., Ткаченко С.Б. 2003. Клинический патоморфоз эритроцита: Атлас. Томск. (Novitsky V.V., Ryazantseva N.V., Stepovaya E.A., Bystritsky L.D., Tkachenko S.B. 2003. Clinical erythrocyte pathomorphosis. Atlas. Tomsk.)
- Перепелица С.А., Сергунова В.А., Гудкова О.Е. 2014а. Состояние мембраны эритроцитов недоношенных новорожденных в раннем неонатальном периоде. Общая реаниматология. Т. 10. № 6. С. 46. (Perepelitsa S.A., Sergunova V.A., Gudkova O.E. 2014a. The red blood cell membrane of preterm infants in the early neonatal period. Obshchaya Reanimatologiya. V. 10. P. 46.)
- Перепелица С.А., Сергунова В.А., Гудкова О.Е. 2017. Влияние перинатальной гипоксии на морфологию эритроцитов у новорожденных. Общая реаниматология. Т. 13. № 2. С. 14. (Perepelitsa S.A., Sergunova V.A., Gudkova O.E. 2017. The effect of perinatal hypoxia on red blood cell morphology in newborns. Obshchaya Reanimatologiya. V. 13. P. 14.)
- Перепелица С.А., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., Алексеева С.В. 2014б. Особенности мембран эритроцитов недоношенных новорожденных при многоплодной беременности. Общая реаниматология. Т. 10. № 1. С. 12. (Perepelitsa S.A., Sergunova V.A., Gudkova O.E., Alekseyeva S.V. 2014b. Osobennosti membran eritrotsitov nedonoshennykh novorozhdennykh pri mnogoplodnoi beremennosti. Obshchaya Reanimatologiya. V. 10. P. 12.)
- Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. 2004. Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической и психической патологии. Успехи физиол. наук. Т. 35. № 1. С. 53. (Ryazantseva N.V., Novitsky V.V. 2004. Typical disorders in molecular organization of erythrocyte membrane in patient with somatic and mental pathology. Uspekhi Physiol. Nauk. V. 35. № 1. P. 53.)
- Сергунова В.А., Козлова Е.К., Мягкова Е.А., Черныш А.М. 2015. Измерение упругоэластических свойств мембраны нативных эритроцитов *in vitro*. Общая реаниматология. Т. 11. № 3. С. 39. (Sergunova V.A., Kozlova E.K., Myagkova E.A., Chernysh A.M. 2015. In Vitro measurement of the elastic properties of the native red blood cell membrane. Obshchaya Reanimatologiya V. 11. P. 39.)
- Стародубцева М.Н., Воронаев Е.В., Петренёв Д.Р., Мицур В.М., Егоренков Н.И. 2015. АСМ-диагностика патологии эритроцитов на основе физико-механического образа клеточной поверхности. Проблемы здоровья и экологии. Т. 44. № 2. С. 99. (Starodubtseva M.N., Voronayev E.V., Petrenyov D.R., Mitsura V.M., Yegorenkov N.I. 2015. AFM diagnostics of red blood cell pathology based on the physical and mechanical image of the cell membrane. Problemy zdorov'â i êkologii V. 44. № 2. P. 99.)
- Трошкина Н.А., Циркин В.И., Дворянский С.А. 2007. Эритроцит: строение и функции его мембраны. Вятский медицинский вестник. Т. 3. № 2. С. 32. (Troshkina N.A., Tsirkin V.I., Dvoryanskiy S.A. 2007. Erythrocyte: membrane structure and function. Vyatka Medical Bulletin. V. 3. № 2. P. 32.)
- Хадарцев А.А., Наумова Э.М., Валентинов Б.Г., Розачев Р.В. 2022. Эритроциты и окислительный стресс. Вестник новых медицинских технологий. Т. 29. № 1. С. 93. (Khadartsev A.A., Naumova E.M., Valentinov B.G., Grachev R.V. 2022. Erythrocytes and oxidative stress (literature review). J. New Medical Technol. V. 29. P. 93.)
- Шерстюкова Е.А., Иноземцев В.А., Козлов А.П., Гудкова О.Е., Сергунова В.А. 2021. Атомно-силовая микроскопия в оценке механических свойств мембран эритроцитов при воздействии различных физико-химических агентов. Альманах клинической медицины. Т. 49. № 6. С. 427. (Sherstyukova E.A., Inozemtsev V.A., Kozlov A.P., Gudkova O.E., Sergunova V.A. 2021. Atomic force microscopy in the assessment of erythrocyte membrane mechanical properties with exposure to various physicochemical agents. Almanac Clinical Med. V. 49. P. 427.)
- Чайка Н.А., Данилова Л.А., Литвиненко Л.А. 2019. Презеклампсия и здоровье новорожденных. Медицина: теория и практика. № 4. С. 593. (Chajka N.A., Danilova L.A., Litvinenko L.A. 2019. Prejeklampsija i zdorov'e novoro-zhdenykh. Medicina: teoriya i praktika. 2019. № 4. P. 593.)
- Чумакова С.П., Уразова О.И., Зима А.П., Новицкий В.В. 2018. Особенности физиологии эритроцитов. Гемолит и эриптоз. Гематология и трансфузиология. Т. 63. № 4. С. 343. (Chumakova S.P., Urazova O.I., Zima A.P., Novitskiy V.V. 2018. Features of the physiology of erythrocytes.

- Hemolysis and eryptosis. *Hematology and Transfusiology*. V. 63. P. 343.)
- Binnig G., Quate C.F., Gerber C. 1986. Atomic force microscope. *Phys. Rev. Lett.* V. 56. P. 93.
- Demchenkov E.L., Nagdalian A.A., Budkevich R.O., Oboturova N.P., Okolelova A.I. 2020. Usage of atomic force microscopy for detection of the damaging effect of CdCl₂ on red blood cells membrane. *Ecotoxicol Environ. Saf.* 208. P. 111683.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111683>
- Dodd J.M., Grivell R.M., O'Brien C.M., Dowsell T., Deussen A.R. 2017. Prenatal administration of progestogens for preventing spontaneous preterm birth in women with a multiple pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* V. 2017. № 10. P. D012024.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD012024.pub2>
- Geekiyange N.M., Balanant M.A., Sauret E., Saha S., Flower R., Lim C.T., Gu Y.T. 2019. A coarse-grained red blood cell membrane model to study stomatocyte-discocyte-echinocyte morphologies. *PLoS One*. V. 14. P. e0215447.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215447>
- Jaferzadeh K., Sim M., Kim N., Moon I. 2019. Quantitative analysis of three-dimensional morphology and membrane dynamics of red blood cells during temperature elevation. *Scientific Reports*. V. 9. P. 1.
- Kamruzzahan A.S.M., Kienberger F., Stroh C.M., Berg J., Huss R., Ebner A., Zhu R., Rankl C., Gruber H.J., Hinterdorfer P. 2004. Imaging morphological details and pathological differences of red blood cells using tapping-mode AFM. *Biol. Chem.* V. 385. P. 955.
- Kim Y., Park J., Kim M. 2017. Diagnostic approaches for inherited hemolytic anemia in the genetic era. *Blood Res.* V. 52. P. 84.
- Kodippili G.C., Spector J., Sullivan C. 2009. Imaging of the diffusion of single band 3 molecules on normal and mutant erythrocytes. *Blood*. V. 113. P. 6237.
- Kozlova E.K., Chernysh A.M., Moroz V.V., Kuzovlev A.N. 2013. Analysis of nanostructure of red blood cells membranes by space Fourier transform of AFM images. *Micron*. V. 44. P. 218.
<https://doi.org/10.1016/j.micron.2012.06.012>
- Kozlova E., Chernysh A., Sergunova V., Gudkova O., Manchenko E., Kozlov A. 2018. Atomic force microscopy study of red blood cell membrane nanostructure during oxidation-reduction processes. *Journal of Molecular Recognition*. V. 31. № 10. P. 2724.
<https://doi.org/10.1002/jmr.2724>
- Kozlova E., Chernysh A., Sergunova V., Manchenko E., Moroz V., Kozlov A. 2019. Conformational distortions of the red blood cell spectrin matrix nanostructure in response to temperature changes *in vitro*. *Scanning*. V. 2019. P. 8218912.
<https://doi.org/10.1155/2019/8218912>
- Lim H.W.G., Wortis M., Mukhopadhyay R. 2009. Red blood cell shapes and shape transformations. Newtonian mechanics of a composite membrane. Sections 2.5–2.8. In: *Soft Matter*. Hoboken: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. P. 83.
<https://doi.org/10.1002/9783527623372.ch2a>
- Niece K.L., Boyd N.K., Akers K.S. 2015. *In vitro* study of the variable effects of proton pump inhibitors on voriconazole. *Antimicrob. Agents Chemother.* V. 59. P. 5548.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00884-15>
- Perrone S., Tataranno M.L., Stazzoni G., Del Vecchio A., Buonocore G. 2012. Oxidative injury in neonatal erythrocytes. *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* V. 25 P. 104.
- O'Sullivan M.P., Looney A.M., Moloney G.M., Finder M., Hallberg B., Clarke G., Boylan G.B., Murray D.M. 2019. Validation of altered umbilical cord blood microRNA Expression in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. *JAMA Neurol.* V. 76. P. 333.
<https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2018.4182>
- Revin V.V., Gromova N.V., Revina E.S., Prosnikova K.V., Revina N.V., Bochkareva S.S., Stepushkina O.G., Grunushkin I.P., Tairova M.R., Incina V. 2019. I. Effects of polyphenol compounds and nitrogen oxide donors on lipid oxidation, membrane-skeletal proteins, and erythrocyte structure under hypoxia. *BioMed. Res. Int.* 2019. Article ID 6758017.
<https://doi.org/10.1155/2019/6758017>
- Rudenko S.V. 2010. Erythrocyte morphological states, phases, transitions and trajectories. *Biochim. Biophys. Acta—Biomembranes*. V. 1798. P. 1767.
- Sergunova V., Leesment S., Kozlov A., Inozemtsev V., Platitsina P., Lyapunova S., Onufrievich A., Polyakov V., Sherstyukova E. 2022. Investigation of red blood cells by atomic force microscopy. *Sensors (Basel)*. V. 22. P. 2055.
<https://doi.org/10.3390/s22052055>
- Shankaran S. 2015. Therapeutic hypothermia for neonatal encephalopathy. *Curr. Opin. Pediatr.* V. 2. P. 152.
- Starodubtseva M.N., Karachrysafti S., Shklyarava N.M., Chelnokova I.A., Kavvadas D., Papadopoulou K., Samara P., Pappaliagkas, Sioga A., Komnenou A., Karampatakis V., Pappamitsou T. 2022. The Effects of intravitreal administration of antifungal drugs on the structure and mechanical properties peripheral blood erythrocyte surface in rabbits. *Int. J. Mol. Sci.* V. 23. P. 10464.
<https://doi.org/10.3390/ijms231810464>
- Steiner L.A., Gallagher P.G. 2007. Erythrocyte disorders in the perinatal period. *Semin. Perinatol.* V. 31 P. 254.
- Tachev K.D., Danov K.D., Kralchevsky P.A. 2004. On the mechanism of stomatocyte-echinocyte transformations of red blood cells: experiment and theoretical model. *Colloids Surfaces B: Biointerfaces*. V. 34. P. 123.
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2003.12.011>
- Zhang Y., Zhang W., Wang S., Wang C., Xie J., Chen X., Xu Y., Mao P. 2012. Detection of erythrocytes in patients with multiple myeloma using atomic force microscopy. *Scanning*. V. 34. P. 295.
- Zhong Q., Inniss D., Kjoller K., Elings V. 1993. Fractured polymer/silica fiber surface studied by tapping mode atomic force microscopy. *Surface Science Letters*. V. 290. P. 688.

Morphological Changes of Erythrocytes in Neonates with Perinatal Hypoxia

O. D. Denisenko^{a, *}, S. A. Perepelitsa^{a, b}, V. A. Sergunova^b, S. S. Lyapunova^b, and L. S. Litvinova^a

^a*Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, 236016 Russia*

^b*Negovsky Research Institute of General Resuscitation Federal Scientific, Clinical Center for Resuscitation and Rehabilitology, Moscow, 107031 Russia*

**e-mail: ksushadenisenko@mail.ru*

Despite active research on the functional properties of erythrocytes under pathological conditions, this problem is of great importance. One of the causes of fetal and neonatal distress is hypoxia. The consequences of the negative effects of oxygen deficiency on the embryo and fetus can manifest both in utero and after birth, leading to various diseases. The aim of this work is to investigate the effects of acidosis as a marker of perinatal hypoxia on the erythrocyte membrane of newborns in the early neonatal period. The use of an atomic force microscope made it possible to obtain images and cell profiles to assess the morphological and structural characteristics of erythrocytes during hypoxia in children in the early neonatal period. Perinatal hypoxia has been shown to alter erythrocyte morphology and damage membrane structure. The early neonatal period is characterized by changes in the morphological forms and instability of erythrocyte membranes.

Keywords: neonates, perinatal hypoxia, erythrocyte membrane, erythrocyte morphology