

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 616-053.32:546.618.177-089

3.1.21. Педиатрия (медицинские науки)

doi: 10.29039/1992-6499-2023-1-66-71

ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ ЖЕЛЕЗА В КРОВИ ДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ, ЗАЧАТЫХ ЕСТЕСТВЕННЫМ ПУТЕМ И ПО ТЕХНОЛОГИИ ЭКО

*Наталья Петровна Проватар, Елена Игоревна Каширская,
Александр Аркадьевич Николаев, Алексей Владимирович Каширский
Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия

Аннотация: Представлены результаты исследования показателей обмена железа у доношенных детей, зачатых естественным путем и по технологии экстракорпорального оплодотворения. Полученные данные позволили сделать вывод об отсутствии статистически значимых различий изучаемых показателей в группах и не выявили влияния технологии экстракорпорального оплодотворения на метаболизм железа доношенных новорожденных детей. **Цель:** изучить показатели метаболизма железа у доношенных детей, зачатых по технологии экстракорпорального оплодотворения, и детей, рожденных после естественного зачатия. **Материалы и методы исследования:** в работе использовались клинический, биохимический и статистический методы. Определены показатели гемограммы и феррокинетики у 20 доношенных детей, зачатых естественным способом, и у 18 детей, рожденных по технологии экстракорпорального оплодотворения. **Результаты исследования.** У доношенных детей, рожденных в результате процедуры экстракорпорального оплодотворения, уровень Нв составил $17,03 \pm 0,82$ г/дл. Уровень сывороточного железа был сопоставим в исследуемых группах (у доношенных детей, зачатых естественным путем, составляет $26,09 \pm 0,68$ мкмоль/л, у детей, зачатых путем экстракорпорального оплодотворения – $25,24 \pm 0,5$ мкмоль/л). Исследования уровня ферритина у доношенных детей, зачатых естественным способом, показали значения $175,73 \pm 11,63$ мкг/л, у детей после процедуры экстракорпорального оплодотворения – $177,04 \pm 11,21$ мкг/л. При расчете ферритинового индекса ($sTfR / \log_{10}$ Ферритин) получены данные – у доношенных детей ферритиновый индекс равен $3,72 \pm 0,28$ и $4,03 \pm 0,36$ мг/л в зависимости от способа зачатия, различия статистически не достоверны. У доношенных детей, зачатых естественным путем, уровень TS определен $61,18 \pm 4,11$ %, а у доношенных детей, рожденных в результате вспомогательных технологий – $61,77 \pm 5,3$ %. **Заключение.** Исследование позволило сделать вывод об отсутствии статистически значимого влияния метода экстракорпорального оплодотворения на метаболизм железа и факторы феррокинетики у доношенных новорожденных детей, зачатых данным методом.

Ключевые слова: дети, экстракорпоральное оплодотворение, показатели железа крови

Для цитирования: Проватар Н. П., Каширская Е. И., Николаев А. А., Каширский А. В. Показатели состояния железа в крови доношенных детей, зачатых естественным путем и по технологии ЭКО // Астраханский медицинский журнал. 2023. Т. 18, № 1. С. 66–71. doi: 10.29039/1992-6499-2023-1-66-71.

ORIGINAL INVESTIGATIONS

Original article

IRON INDICATORS IN THE UMBILICAL BLOOD OF PREMATURE CHILDREN BORN USING IVF TECHNOLOGY

Natalia P. Provatar, Elena I. Kashirskaya, Aleksandr A. Nikolaev, Aleksey V. Kashirskiy
Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

* © Проватар Н.П., Каширская Е.И., Николаев А.А., Каширский А.В., 2023

Abstract. The paper presents the results of a study of iron metabolism in full-term infants conceived naturally and using in vitro fertilization (IVF) technology. The data obtained allowed us to conclude that there were no statistically significant differences in the studied indicators in the groups and did not reveal the effect of IVF technology on the iron metabolism of full-term newborns. **The purpose of the study.** To study and compare the data of iron metabolism - hemoglobin, serum iron, serum transferrin receptor (sTfR), ferritin, ferritin index (sTfR/logFer), transferrin saturation, zinc protoporphyrin/ heme ratio in full-term infants conceived using IVF technology and children born by natural conception. **Materials and methods.** Clinical, biochemical and statistical methods were used in the work. The indicators of hemogram and ferrokinetics were determined in 20 full-term children conceived by observation, and in 18 children born using the technology of in vitro fertilization. **Research results.** In full-term children born as a result of IVF procedure, the level of Hb it was $17,03 \pm 0,82$ g/dl. The level of serum iron was comparable in the study groups (in full-term children conceived naturally, it is $26,09 \pm 0,68$ $\mu\text{mol/l}$, in children conceived by IVF – $25,24 \pm 0,5$ $\mu\text{mol/l}$). Studies of the ferritin level in full-term children conceived in the traditional way showed values of $175,73 \pm 11,63$ $\mu\text{g/l}$, in children after IVF procedure – $177,04 \pm 11,21$ $\mu\text{g/l}$. When calculating the ferritin index (sTfR / log10 Ferritin), data were obtained - in full-term children, the ferritin index is $3,72 \pm 0,28$ and $4,03 \pm 0,36$ mg/l depending on the method of conception, the differences are not statistically significant. In full-term children conceived naturally, the TS level was determined to be $61,18 \pm 4,11$ %, and in full-term children born as a result of traditional conception – $61,77 \pm 5,3$ %. **Conclusion.** The study allowed us to conclude that there is no statistically significant effect of the IVF method on iron metabolism and ferrokinetic factors in full-term newborns conceived by this method.

Keywords: children, in vitro fertilization, blood iron indicators

For citation: Provatar N. P., Kashirskaya E. I., Nikolaev A. A., Kashirsky A. V. Iron indicators in the umbilical blood of premature children born using IVF technology. Astrakhan Medical Journal. 2023; 18 (1): 66–71. doi: 10.48612/agmu/2023.18.1. 66-71. (In Russ.).

Введение. Как известно, железу в организме отводится одна из ключевых ролей в обмене веществ, поддержании роста и развития человека. В связи с этим столь важному микроэлементу всегда уделялось и продолжает уделяться внимание исследователей и врачей. Мониторирование уровня железа, в частности сывороточного железа в крови и показателей гемограммы, является жизненно необходимым, а поддержание обмена этого металла в рамках референтных значений приоритетным для организма.

Дефицит железа может проявляться по-разному, начиная от микросимптомов и заканчиваясь патологией. Вместе с тем перенасыщение организма железом также приводит к ряду негативных последствий. Следовательно, поддержание гомеостаза железа в рамках физиологических норм является основополагающим элементом при терапии многих заболеваний [1].

Поступление железа к плоду от матери в большей степени происходит в третьем триместре беременности. Соответственно, доношенный ребенок должен получить в полном объеме припасенный для него запас данного металла. Однако недоношенный ребенок в этом смысле обделен, поскольку преждевременные роды прерывают данный процесс. Как результат – запасы железа ребенка напрямую зависят от его гестационного возраста и массы тела при рождении [2].

Использование современных методов искусственного оплодотворения поставило перед исследователями новые задачи. Выявление особенностей в развитии детей, зачатых методом экстракорпорального оплодотворения (ЭКО), способствует поиску научных решений и объяснений, дополнительных исследований и анализа результатов [3]. В этом плане метаболизм железа представляет особый интерес, поскольку сравнительный анализ факторов, участвующих в обмене этого металла у доношенных детей, рожденных по технологии ЭКО и после естественного зачатия, может различаться, а исследования такого рода способствовать повышению качества оказания помощи детям.

Цель: изучить показатели метаболизма железа у доношенных детей, зачатых по технологии ЭКО, и детей, рожденных после естественного зачатия.

Материалы и методы исследования. В работе использованы клинический, биохимический и статистический методы. Определены основные показатели гемограммы и феррокинетики у 20 детей, зачатых естественным способом, и у 18 детей, рожденных по технологии ЭКО. Гестационный возраст детей колебался от 37 до 42 недель беременности.

Уровень сывороточного железа в крови был изучен следующим образом. Белки сыворотки осаждали с помощью 20 % трихлоруксусной кислоты и отделяли методом центрифугирования. Железо в

надосадочной жидкости оценивали колориметрически с использованием 2,2'-дипиридила; считывание оптической плотности при 525 нм производили на спектрофотометре UV-V (UV-VIS PB 2201). Количество присутствующего железа считывалось по ранее построенной стандартной кривой.

Общую железосвязывающую способность сыворотки (ОЖСС) определяли в лабораторных условиях биохимическим методом. К 1,0 мл сыворотки добавляли 0,1 мл цитрата железа(III)-аммония, содержащего 5 мкг железа. Через 10 мин добавляли 0,5 г ионообменной смолы Amberlite I.R.A. 410. Далее добавляли веронал-мединаловый буфер (рН = 7,5) и центрифугировали. В 4,0 мл супернатанта добавляли 2,2'-дипиридил и считывали оптическую плотность при 525 нм.

Концентрацию ферритина и растворимого рецептора трансферрина изучали с помощью набора реактивов фирмы «Monobind Inc.» (США), предназначенных для проведения количественного иммуноферментного анализа [4].

При расчете ферритинового индекса использовали формулу $sTfR/\log_{10}Fer$, где $sTfR$ – растворимый рецептор трансферрина (мг/л), Fer – ферритин (нг/мл) [4].

Процент насыщения трансферрина (TS%) или процентное содержание трансферрина, связанного с ионами железа, определяли путем деления концентрации сывороточного железа на ОЖСС и умножения результата на 100 [4].

Соотношение протопорфирина цинка/гем (ZnPP/H) исследовали в цельной крови после промывки фосфатно-солевым буфером с использованием гематофлуориметра AVIV ZPP, модель 206D («AVIV Biomedical», США) [5]. Кровь немедленно тестировали на гемоглобин с помощью автоматического счетчика Култера и на ZnPP с помощью гематофлуориметра AVIV ZPP (модель 206 D, «AVIV Biomedical», США). Значения ZPP были измерены в мкг/дл и преобразованы в мкмоль/моль гема (отношение ZnPP/H) путем расчета по следующему уравнению [5] $ZnPP/H \text{ ratio} = \mu\text{mol of ZnPP} = \mu\text{g of ZnPP mol of heme g of Hgb} \times 25,8$.

Статистические расчеты результатов исследования проводили с помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft, США).

Результаты исследования и их обсуждение. По итогам проведенного исследования получены данные, представленные в таблице.

Таблица. Показатели обмена железа у доношенных детей
Table. Indicators of iron metabolism in full-term infants

Показатели обмена железа	Доношенные дети, зачатые естественным путем	Доношенные дети, зачатые путем ЭКО	p
Гемоглобин (г/дл)	16,33 ± 0,71	17,03 ± 0,82	$p \geq 0,05$
Железо (мкмоль/л)	26,09 ± 0,68	25,24 ± 0,50	$p \geq 0,05$
ОЖСС (мкмоль/л)	42,00 ± 0,26	41,20 ± 0,34	$p \geq 0,05$
Ферритин (мкг/л)	175,73 ± 11,63	177,04 ± 11,21	$p \geq 0,05$
Растворимый рецептор трансферрина (мг/л)	7,91 ± 0,28	7,82 ± 0,31	$p \geq 0,05$
Индекс ферритина	3,72 ± 0,28	4,03 ± 0,36	$p \geq 0,05$
Насыщение трансферрина (%)	61,18 ± 4,11	61,77 ± 5,3	$p \geq 0,05$
Соотношение протопорфирина цинка / гем (мкмоль/моль)	79,99 ± 2,77	81,23 ± 6,1	$p \geq 0,05$

Примечание: p – достоверность различий показателей доношенных детей, рожденных в результате процедуры ЭКО, и доношенных детей, зачатых естественным путем

Note: p – significance of differences between the indicators of full-term children born as a result of the IVF procedure and full-term children conceived naturally

Как видно из таблицы, выявлено отсутствие достоверных различий между показателями гемоглобина (Hb) в двух исследуемых группах. У доношенных детей, рожденных после естественного зачатия, уровень Hb был равен 16,33 ± 0,71 г/дл, что было сопоставимо с группой доношенных детей, рожденных в результате процедуры ЭКО, где уровень Hb составил 17,03 ± 0,82 г/дл.

Результаты изучения ОЖСС также значимо не отличались в двух группах и составили 42,00 ± 0,26 мкмоль/л и 41,20 ± 0,34 мкмоль/л, соответственно, у детей, зачатых естественным путем и в результате ЭКО.

Уровень сывороточного железа был сопоставим в исследуемых группах (у доношенных детей, зачатых естественным путем, – 26,09 ± 0,68 мкмоль/л, у детей, зачатых путем ЭКО – 25,24 ± 0,50 мкмоль/л). Статистические расчеты достоверности различий в двух группах детей выявляют отсутствие значимой

разницы у доношенных детей, рожденных в результате естественного зачатия, и у доношенных детей, рожденных в результате процедуры ЭКО, в отношении изученного показателя крови. Необходимо отметить, что полученные данные по литературным источникам соотносятся с результатами других исследователей, по отношению к детям, зачатым естественным путем, и, кроме того, напрямую коррелируют с гестационным возрастом [6].

Исследования уровня ферритина у доношенных детей, зачатых естественным способом, показали значения $175,73 \pm 11,63$ мкг/л, у детей, прошедших процедуру ЭКО, – $177,04 \pm 11,21$ мкг/л. Оценка полученных данных не выявила статистически значимых различий и совпадала с результатами, полученными другими исследователями [6]. Кроме того, выявлено, что концентрация ферритина в сыворотке крови увеличивалась с гестационным возрастом.

Показатели растворимого рецептора трансферрина (sTfR) в зависимости от вида зачатия также представлены в таблице (уровень sTfR у доношенных детей, зачатых естественным путем и в результате процедуры ЭКО, составил, соответственно, $7,91 \pm 0,28$ и $7,82 \pm 0,31$ мг/л. Следует заметить, что у взрослого контингента значения sTfR находятся в рамках 1,0–2,7 мг/л [7], что несоизмеримо ниже полученных данных. В доступной литературе последних лет приведены сведения об уровне sTfR у детей, которые не отражают единой концепции. Так, например, S. Mesman с соавторами [8] не выявили корреляции между гестацией и уровнем sTfR. S. Banerjee [9] и G. Hay [10] определили более высокие значения sTfR в пуповинной крови нежели у взрослых.

При расчете ферритинового индекса (sTfR/log10 Ферритин) получены данные, показывающие, что у доношенных детей ферритиновый индекс равен $3,72 \pm 0,28$ и $4,03 \pm 0,36$ мг/л в зависимости от способа зачатия, а различия статистически не достоверны. Другими словами, проведенные исследования не выявили разницы в данном показателе в исследуемых группах.

Что касается коэффициента насыщения трансферрина железа, то его уровень увеличивался с гестационным возрастом и статистически значимо превышал значения у взрослых. Однако не отмечалось взаимосвязи между способом зачатия ребенка и уровнем насыщения трансферрина. У доношенных детей, зачатых естественным путем, данный показатель определен на значении $61,18 \pm 4,11\%$, а у доношенных детей, рожденных в результате вспомогательных технологий, – $61,77 \pm 5,30\%$.

Показатель соотношения протопорфирин цинка/гемм (ZnPP/H) недостаточно часто используется в исследованиях метаболизма железа, хотя данный коэффициент является весьма чувствительным показателем железодефицитного эритропоэза. Цинк способен замещать железо при его дефиците. В связи с этим показатель протопорфирина цинка демонстрирует неполное включение железа в протопорфирин. Отношение ZnPP/H является более чувствительным показателем, нежели уровень гемоглобина или ферритина плазмы. Кроме того, отношение ZnPP/H может применяться для контроля терапии железом. По результатам проведенного исследования у доношенных детей уровень ZnPP /H составляет $79,99 \pm 2,77$ мкмоль/моль в группе детей, зачатых естественным путем, и $81,23 \pm 6,10$ мкмоль/моль у детей, рожденных с помощью метода ЭКО. Однако статистически значимых различий выявлено не было.

Заключение. Перед оценкой полученных показателей представленного исследования было проведено их сравнение с литературными данными у детей, рожденных после естественного зачатия. Выяснилось, что полученные результаты соответствуют референтным значениям, используемым в других исследованиях [6]. Таким образом, применяемые в работе методы изучения метаболизма железа вполне приемлемы и отражают современные биохимические подходы. Следовательно, можно достоверно оценивать различия в обмене железа у доношенных детей, рожденных по процедуре экстракорпорального оплодотворения, и у доношенных детей, рожденных в результате естественного зачатия. Однако в результате статистической обработки данных статистически достоверных различий выявлено не было.

Вышеизложенное позволило сделать вывод об отсутствии статистически значимого влияния метода экстракорпорального оплодотворения на метаболизм железа и факторы феррокинетики у доношенных новорожденных детей, зачатых данным методом.

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

Disclosure. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international IC-MJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

Список источников

1. Wang Y., Yu L., Ding J., Chen Y. Iron Metabolism in Cancer // *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 27, no. 20. P. 95–107.
2. Haga P. Plasma ferritin concentrations in preterm infants in cord blood and during the early anaemia of prematurity // *Acta Paediatrica*. 1980. Vol. 69. P. 637.
3. Bergh C., Wennerholm U.-B. Long-term health of children conceived after assisted reproductive technology // *Uppsala Journal of Medical Sciences*. 2020. Vol. 125, no. 2. P. 152–157.
4. Chen C. M., Mu S. C., Shih C. K., Chen Y. L., Tsai L. Y., Kuo Y. T., Cheong I. M., Chang M. L., Chen Y. C., Li S.-C. Iron Status of Infants in the First Year of Life in Northern Taiwan // *Nutrients*. 2020. Vol. 12, no. 1. P. 139–151.
5. Shao J., Richards B., Kaciroti N., Zhu B., Clark K. M., Lozoff B. Contribution of iron status at birth to infant iron status at 9 months : data from a prospective maternal-infant birth cohort in China // *European Journal of Clinical Nutrition*. 2021. Vol. 75, no. 2. P. 364–372.
6. Qian Y., Ying X., Wang P., Lu Z., Hua Y. Early versus delayed umbilical cord clamping on maternal and neonatal outcomes // *Archives of gynecology and obstetrics*. 2019. Vol. 300, no. 3. P. 531–543.
7. Ratnaningsih T., Sukirto N. W., Wahyuningsih A. T. Soluble Transferrin Receptor (sTfR) Identifies Iron Deficiency Anemia (IDA) in Pulmonary Tuberculosis Patients // *Acta Medica Indonesiana*. 2020. Vol. 52, no. 4. P. 334–343.
8. Mesman S., Bakker R., Smidt M. Tcf4 is required for correct brain development during embryogenesis // *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2020. Vol. 106, no. 3. P. 103502–103517.
9. Banerjee S., Fernandez R., Fox G., Goss K., Mactier H., Reynolds P. Surfactant replacement therapy for respiratory distress syndrome in preterm infants : United Kingdom national consensus // *Pediatric Research*. 2019. Vol. 86, no. 1. P. 12–14.
10. Hay G., Refsum H., Whitelaw A., Melbye E. L., Haug E., Borch-Johnsen B. Predictors of serum ferritin and serum soluble transferrin receptor in newborns and their associations with iron status during the first 2 y of life // *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2007. Vol. 86, no. 1. P. 64–73.

References

1. Wang Y., Yu L., Ding J., Chen Y. Iron Metabolism in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018; 27 (20): 95–107.
2. Haga P. Plasma ferritin concentrations in preterm infants in cord blood and during the early anaemia of prematurity. *Acta Paediatrica*. 1980; 69 (3): 637–641.
3. Bergh C., Wennerholm U.-B. Long-term health of children conceived after assisted reproductive technology. *Uppsala Journal of Medical Sciences*. 2020; 125 (2): 152–157.
4. Chen C. M., Mu S. C., Shih C. K., Chen Y. L., Tsai L. Y., Kuo Y. T., Cheong I. M., Chang M. L., Chen Y. C. Iron Status of Infants in the First Year of Life in Northern Taiwan. *Nutrients*. 2020; 12 (1): 139–151.
5. Shao J., Richards B., Kaciroti N., Zhu B., Clark K. M., Lozoff B. Contribution of iron status at birth to infant iron status at 9 months: data from a prospective maternal-infant birth cohort in China. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2021; 75 (2): 364–372.
6. Qian Y., Ying X., Wang P., Lu Z., Hua Y. Early versus delayed umbilical cord clamping on maternal and neonatal outcomes. *Arch Gynecol Obstet*. 2019; 300 (3): 531–543.
7. Ratnaningsih T., Sukirto N. W., Wahyuningsih A. T. Soluble Transferrin Receptor (sTfR) Identifies Iron Deficiency Anemia (IDA) in Pulmonary Tuberculosis Patients. *Acta Medica Indonesiana*. 2020; 52 (4): 334–343.
8. Mesman S., Bakker R., Smidt M. Tf4 is required for correct brain development during embryogenesis. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2020; 106 (3): 103502–103517.
9. Banerjee S., Fernandez R., Fox G., Goss K., Mactier H., Reynolds P. Surfactant replacement therapy for respiratory distress syndrome in preterm infants: United Kingdom national consensus. *Pediatric Research*. 2019; 86 (1): 12–14.
10. Hay G., Refsum H., Whitelaw A., Melbye E. L., Haug E., Borch-Johnsen B. Predictors of serum ferritin and serum soluble transferrin receptor in newborns and their associations with iron status during the first 2 years of life. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 2007; 86 (1): 64–73.

Информация об авторах

Н.П. Проватар, аспирант кафедры педиатрии и неонатологии, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия, e-mail: provatarnatalia@gmail.com.

Е.И. Каширская, доктор медицинских наук, заведующая кафедрой педиатрии и неонатологии, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия, e-mail: kmn2001@mail.ru.

А.А. Николаев, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой химии, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия, e-mail: chimnik@mail.ru.

А.В. Каширский, студент, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия, e-mail: alekseikashirski@mail.ru.

Information about the authors

N.P. Provatar, Postgraduate Student of the Department, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, e-mail: provatarnatalia@gmail.com.

E.I. Kashirskaya, Dr. Sci. (Med.), Head of the Department, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, e-mail: kmn2001@mail.ru.

A.A. Nikolaev, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of Department, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, e-mail: chimnik@mail.ru.

A.V. Kashirsky, student, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, e-mail: stalker2010_99mail.ru.*

* Статья поступила в редакцию 20.12.2022; одобрена после рецензирования 29.12.2022; принята к публикации 27.03.2023.

The article was submitted 20.12.2022; approved after reviewing 29.12.2022; accepted for publication 27.03.2023.