

РОЛЬ ИММУНОБИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕКРОТИЗИРУЮЩЕГО ЭНТЕРОКОЛИТА У НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ

Салихова К.Ш.¹, Рустамова М.Ш.², Абдурахманова Ф.Р.¹, Ишниязова Н.Д.³,
Агзамходжаева Б.У.¹

¹Республиканский специализированный научно – практический медицинский центр педиатрии,

²Республиканский научно-практический медицинский центр малоинвазивной и эндовизуальной хирургии детского возраста,

³Ташкентский педиатрический медицинский институт

XULOSA

Tadqiqot maqsadi. Erta tug'ilgan chaqaloqlarda nekrotik enterokolit rivojlanishining patogenezida va uning bosqichida sitokinnarning rolini o'rganish.

Materiallar va usullar. 150 nafar erta tug'ilgan chaqaloqlar tekshirildi, ulardan 125 da NEK tashhisi qo'yilgan.

- 1-guruh - 23 (18,4%) erta tug'ilgan chaqaloqlarda NEK I A bosqichi tashhisi qo'yilgan bo'lib, ulardan 60,8% o'g'il bolalar, 39,2% qizlar; homiladorlik muddati 34,8±1,2 hafta, tug'ilishning o'rtacha vazni 1925,5±18,6 g ni tashkil etdi. 2-guruh - 41 (32,8%) erta tug'ilgan chaqaloqlarda NEK I B bosqichi tashhisi qo'yilgan, ulardan 65,8% o'g'il bolalar, 34,2% qizlar; homiladorlik muddati 31,3±1,2 hafta, tug'ilishning o'rtacha vazni 1655,5±45,9 g ni tashkil etdi. 3-guruh - 61 (48,8%) erta tug'ilgan chaqaloqlarda NEK II A bosqichi tashhisi qo'yilgan, shundan o'g'il bolalar (62,3%), qizlar 36,8%, homiladorlik muddati 32,2±2,1 hafta, tug'ilishdagi o'rtacha vazni 1816,0±75,7 g. Taqqoslash guruhi NEK belgilari bo'lmagan 25 nafar erta tug'ilgan chaqaloqlardan iborat edi. Immunologik tadqiqot usullari quyidagilar tekshirildi: interleykinlarni aniqlash: o'simta nekrozi omili (TFN- α), interleykin 1b (IL-1b), interleykin 6 (IL-6), interleykin 4 (IL-4) biochip texnologiyasidan foydalangan holda "dalil investigator" Randox (Angliya) qurilmasi yordamida. Randox (Angliya) qurilmasi yordamida biochip texnologiyasidan foydalangan holda qon tomir endotelial o'sish omili (VEGF).

Natijalar. NEKning ikkinchi bosqichida yallig'lanish sitokinlar darajasi nazorat guruhiga va NEKning dastlabki bosqichlari ko'rsatkichlariga nisbatan ortib borishini aniqladik.

Xulosa. Biz o'rgangan sitokinnarning ekspressiyasida aniqlangan o'zgarishlar ularning NEK hosil bo'lish mexanizmlarida bevosita ishtirok etishini ko'rsatadi, ayniqsa NEK IIA bosqichida erta tug'ilgan chaqaloqlarda yaqqol namoyon bo'ladi.

Kalit sozlar: nekrotik enterokolit, erta tug'ilgan chaqaloqlar, sitokinlar.

SUMMARY

The aim of the study. To study the role of cytokines in the pathogenesis and stage of development of necrotizing enterocolitis in premature infants.

Materials and methods. 150 premature infants were examined, 125 of them were diagnosed with NEC.

- Group 1 - 23 (18.4%) premature children were diagnosed with NEC stage I A, of which boys - 60.8%, girls - 39.2%, gestational age - 34, 8±1.2 weeks, average birth weight - 1925.5±18.6 g. Group 2 - 41 (32.8%) preterm infants were diagnosed with stage I B NEC, of which boys - 65.8%, girls - 34.2%, gestational age - 31.3±1.2 weeks, average birth weight - 1655.5±45.9 g. Group 3 - 61 (48.8%) premature infants were diagnosed with stage II A NEC, of them boys (62.3%), girls 36.8%, gestational age 32.2±2.1 weeks, mean birth weight 1816.0±75.7 g. The comparison group consisted of 25 premature infants without signs of NEC. The following immunological methods of research were examined: determination of interleukins: tumor necrosis factor (TFN- α), interleukin 1 β (IL-1 β), interleukin 6 (IL-6), interleukin 6 (IL-6). Using "Randox" researcher's proof device with interleukin 4 (IL-4) biochip technology. (England).

Results. The level of inflammatory cytokines was found to be increased in the second stage of NEC compared to the control group and the indicators of the first stages of NEC.

Conclusion. The changes of cytokines expression studied by us testify to their direct participation in the mechanisms of NEC formation, which is especially pronounced in premature infants with NEC stage II A.

Keywords: necrotizing enterocolitis, premature infants, cytokines.

Некротизирующий энтероколит (НЭК) является тяжелой формой острой патологии со сложным многофакторным патогенезом [5, 6, 11]. Ишемизация кишечника, на фоне системной гипоксии-ишемии (РДС, порок сердца синего типа) является важным пусковым фактором развития НЭК, на фоне которого происходит нарушение работы защитных механизмов – в первую очередь, эпителиального барьера кишечника [3,4,8,9,13]. В последние годы показано, что ведущую роль в патогенезе НЭК у маловесных недоношенных детей играют медиаторы воспаления [7,11,].

При этом развитие НЭК ассоциируется с изменениями эндогенной продукции ряда острофазовых белков, провоспалительных цитокинов. Одной из основных особенностей патогенеза НЭК является бурная воспалительная реакция, при которой запускается каскад активации макрофагов и провоспалительных цитокинов которые способствуют повреждению слизистой [1,2,7].

В течение нескольких лет большое количество исследований посвящается изучению биомаркеров системной воспалительной реакции некротизирующего энтероколита, однако до настоящего времени нет профилактических мероприятий по предотвращению этого заболевания в период новорожденности [1,2,12,17]. Определение биомаркера может позволить обнаруживать случаи некротизирующего энтероколита на обратимой стадии.

Учитывая особое значение гипоксии в патогенезе НЭК, особый интерес представляет изучение специфических маркеров воспаления в период ишемии. По данным зарубежных авторов, при НЭК происходит повышение и понижение концентрации как про-, так и противовоспалительных иммуноцитокинов (в том числе, интерлейкина- IL-1 β , интерлейкина- IL-6, фактора некроза опухоли TFN- α , интерлейкина-IL-4 и фактора роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) в периферической крови [14, 15]. Провоспалительные цитокины направляют иммунный ответ по Th1-типу, который характеризуется активацией клеточного иммунитета, выраженным цитотоксическим действием субпопуляций естественных и Т-киллерных клеток. Напротив, противовоспалительные цитокины, ключевым из которых является ИЛ-4, активируют гуморальный Th2-иммунный ответ. Изучение баланса про- и противовоспалительных цитокинов в крови новорожденных различного гестационного возраста является актуальной задачей при анализе особенностей течения их неонатального периода .

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение роли цитокинов в патогенезе развития некротизирующего энтероколита и его стадии у недоношенных новорожденных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в неонатальном отделении Республиканского специального научно-практиче-

ского центра Педиатрии МЗРУз и в отделении неонатальной хирургии Республиканского научно-практического центра малоинвазивной и эндовизуальной хирургии лиц детского возраста МЗРУз. Обследованы 150 недоношенных новорожденных, госпитализированные в неонатальное отделение и отделение неонатальной хирургии, из которых у 125 диагностировано НЭК. В зависимости от стадии заболевания обследуемые больные были разделены на следующие группы:

-1 группа- 23(18,4%) недоношенных новорожденных с диагнозом НЭК I А стадии, из них мальчиков 60,8%, девочек 39,2 %, гестационный возраст 34,8 \pm 1,2 нед., средняя масса при рождении составила 1925,5 \pm 18,6 гр.

-2 группа- 41(32,8%) недоношенных новорожденных с диагнозом НЭК I Б стадии, из них мальчиков 65,8%, девочек 34,2 %, гестационный возраст 31,3 \pm 1,2 нед., средняя масса при рождении составила 1655,5 \pm 45,9 гр

-3 группа- 61 (48,8%) недоношенных новорожденных с диагнозом НЭК II А стадии, из них мальчиков (62,3%), девочек 36,8%, гестационный возраст 32,2 \pm 2,1 нед., средняя масса при рождении 1816,0 \pm 75,7 гр.

Сравнительную группу составили 25 недоношенных детей без признаков НЭК.

Иммунологические методы исследования проводились в лаборатории РСНПМЦ Педиатрии. В ходе работы иммуно-биохимический обследовано:

1. Определение интерлейкинов: Фактор некроза опухоли (TFN- α), интерлейкин 1 β (IL-1 β), интерлейкин 6 (IL-6), интерлейкин 4 (IL-4) по технологии биочипс помощью аппарата «evidence INVESTIGATOR»RANDOX (Англия).

2. Фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), по технологии биочип с помощью аппарата «evidence INVESTIGATOR»RANDOX (Англия).

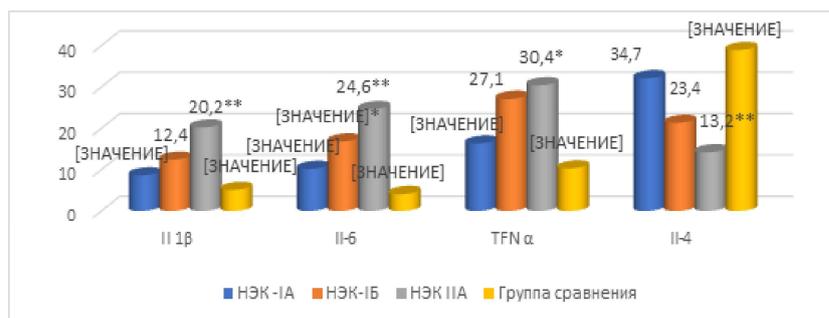
Из инструментальных методов исследования проводили рентгенологическое исследование, которое включало в себя рентгенографию органов грудной клетки и брюшной полости, а также рентгеноконтрастную рентгенографию.

Уровень иммуноцитокинов в крови определяли на 1-2 сутки после постановки диагноза НЭК и в динамике после лечения. Для сравнительной оценки полученных результатов были использованы показатели здоровых недоношенных новорожденных. Изучая уровень противовоспалительных и воспалительных интерлейкинов, мы провели анализ клинических и иммунологических особенностей у новорожденных в неонатальном периоде на разных стадиях НЭК.

Для определения патогенетического механизма у недоношенных новорожденных с НЭК было осуществлено изучение критериев воспалительного процесса таких как: IL-1 β , IL-6, IL-4, а также TFN- α в зависимости от стадии НЭК. Анализ изменений содержания TFN- α , IL-1 β , IL-6 в сыворотке крови боль-

ных с НЭК при поступлении показал, что концентрации изученных биологически активных соединений в крови были существенно выше по сравнению с их уровнем у детей сравнительной группы. Обнаружена высокая концентрация IL-1 β и IL-6 в зависимости от степени тяжести процесса. Установлено, что ИЛ-1 β у детей первой группы увеличивается в 1,7 раза показателя сравнительной группы ($5,2 \pm 1,2$ пг/мл) и составил $8,8 \pm 1,5$ пг/мл, а у детей 2 и 3 группы НЭК – 2,4 и 4,8 раза и составили $12,1 \pm 2,0$ и $24,6 \pm 1,8$ пг/мл ($p < 0,05$) соответственно. Соответственно иммун-

ная система у новорожденных детей при развитии II стадии НЭК, способна к более высокой продукции провоспалительных цитокинов по сравнению детей с НЭК I стадии, что свидетельствует о более серьезной деструкции у младенцев, обеспечивая развитие тяжелой клиники НЭК. Сравнивая уровень ИЛ-1 β первых двух групп с третьей группой НЭК, сохраняется повышение показателя более чем в 2 раза ($p < 0,05$). Содержание IL-6 также характеризовалось повышением в зависимости от тяжести НЭК, что было более выше у детей II А группы.



Примечание: * - достоверность показателей в сравниваемых группах $p < 0,05$,
 ** - достоверность разницы показателей 3 группы при сравнении с показателями 1 и 2 группы $P < 0,001$

Повышение значения TFN- α у этих новорожденных является признаком синдрома СВО, который имеет возможность травматизации клеток эндотелия и повышать значения проницаемости мембраны. Данное явление становится основой для экспрессии каскада гемостаза и комплемента, после которого отмечается накопление нейтрофилов и образование тромбов в малых сосудах. Анализ количество цитокина TFN- α в зависимости от степени тяжести НЭК у новорожденных показало, что у детей 3 группы содержание TFN- α было достоверно выше показателя первой группы. В тоже время, отмечалось значительное снижение показателя противовоспалительного цитокина IL-4 в основных группах по сравнению с показателем группы сравнения. Показатель IL-4 детей 1 группы был незначительно пониженным по сравнению с показателем сравнительной группы и составил $34,7 \pm 2,8$ пг/мл против $38,9 \pm 2,4$ пг/мл, который свидетельствовал $\pm 2,8$ пг/мл о достаточно высоком резерве функционирования иммунной системы. Достоверное снижение данного показателя отмечалось у детей 2 и 3 группы и составил $23,4 \pm 2,4$ пг/мл и $13,2 \pm 1,8$ пг/мл соответственно.

Гипоксический ишемический стресс легко нарушает функцию эндотелия, что приводит к микроциркуляторной дисфункции кишечника [5,6,16], проявляющейся вазоконстрикцией артериол, нарушением эндотелиального барьера в капиллярах, воспалительной клеточной инфильтрацией стенки кишечника, где не маловажную роль играет фактор роста эндотелия сосудов – VEGF. Ангиогенез тесно связан с воспалением, так как продукция проангиогенного

фактора-регулируется такими цитокинами как VEGF. Мощным стимулятором экспрессии VEGF являются эндотелиальная дисфункция, тканевая ишемия и гипоксия. Установлено, что при гипоксии клетки способны не только повышать продукцию VEGF, но и изменять экспрессию рецепторов в сторону уменьшения. С целью определения роли VEGF в развитие НЭК, где не маловажное значение имеет нарушение ангиогенеза и его уровень в зависимости от тяжести патологического процесса, изучали содержание данного цитокина у обследуемых нами новорожденных. Нами определено, что в ранних стадиях НЭК уровень содержания VEGF увеличивается по сравнению с показателем контрольной группы ($199,4$ пг/мл) и составляет $215,7 \pm 23,6$ пг/мл. Вероятно, это компенсаторная реакция организма. У новорожденных 2 и 3 группы этот показатель достоверно уменьшился по сравнению с показателем 1 группы и составил $187,2 \pm 29,7$ пг/мл и $166,5 \pm 23,6$ пг/мл соответственно, что свидетельствует о усугублении патологического процесса.

Таким образом, обнаруженные изменения в экспрессии изученных нами цитокинов указывают на их прямое участие в механизмах формирования НЭК, особенно выраженных у недоношенных детей на стадии II А НЭК. Вероятно, этому течению НЭК у недоношенных младенцев способствуют не только их структурно-функциональная незрелость, но и заметные изменения в производстве цитокинов, нарушающих их нормальный баланс в тканях.

ВЫВОДЫ

Повышение активности изученных биологически активных соединений, могут рассматриваться

как ранние биомаркеры НЭК у маловесных недоношенных детей, с диагностической и прогностической значимостью. Выявленные изменения экспрессии цитокинов свидетельствуют в первую очередь о том, что эти биологически активные соединения непосредственно вовлечены в процессы формирования НЭК как формы острой хирургической патологии и отражают высокую активность воспалительного процесса, более выраженную у недоношенных с хирургической стадией НЭК. Обнаруженные нами сильные изменения в продукции этих маркеров в сыворотке крови у пациентов с НЭК связаны с тяжелым течением заболевания и являются важными показателями неблагоприятных исходов НЭК, что подчеркивает необходимость своевременной коррекции и оптимизации лечения таких пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жукова А. С., Ванько Л. В., Никитина И. В., Балашова Е.Н., Ионов О. И., Дегтярев Д. Н. Содержание цитокинов в плазме крови недоношенных новорожденных детей в раннем неонатальном периоде. //Иммунология. 2017.Т.38, №3-С.143-147
2. Железничкова Г.Ф. Цитокины как предикторы течения и исхода инфекций. Цитокины и воспаление 2019; 8: 1:10–17.
3. Заболевания желудочно-кишечного тракта у доношенных и недоношенных новорожденных / С.Н. Бениова, М.Л. Столина, Н.В. Руденко, Н.П. Блохина, М.Г. Шегеда, Е.С. Абдуллаева. / Современные проблемы науки и образования. - 2012. - №3.-С. 16-18.
4. Иванова, О.Г. Особенности проявления клинических признаков некротизирующего энтероколита у глубоко недоношенных новорожденных / О.Г. Иванова, С.В. Ионушине // Бюллетень Восточно-Сибирского на-учного центра СО РАМН. - 2011. - № 5. - С. 37-39.
5. Карпова, И.Ю. Некротический энтероколит у новорожденных: клиника, диагностика и лечение / И.Ю. Карпова // Современные технологии в медицине. - 2012. - № 2. - С. 138-142.
6. Мальцев, С.В. Некротизирующий энтероколит новорожденных / С.В. Мальцев, Э.М. Шакирова // Практическая медицина. - 2010. - Т. 6, №-С. 69-74.
7. Моллаева Н.О., Насруллаева Г.М., Гулиев Н.Д. Изучение цитокинового статуса у новорожденных и детей грудного возраста с внутриутробными инфекциями. Медицинские новости 2017; 2: 98–100.
8. Некротизирующий энтероколит новорожденных с точки зрения педиатра. Часть 1. Системные реакции при некротизирующем энтероколите / А.И. Чубарова, Н.В. Слабука, Н.В. Голоденко [и др.] // Вопросы практической педиатрии. - 2010. - Т. 5, №1.-С. 13-18.
9. Некротизирующий энтероколит у новорожденных. Новые взгляды и тенденции/ Ю.А. Козлов, В.А Новожилов, К.А. Ковальков [и др.] //Детская хирургия.- 2016. - №4.- С.188-193.
10. Разумовский А.Ю., Полунина Н.В., Саввина В.А., Яковлева А.И., Варфоломеев А.Р., Николаев В.Н. /Некротический энтероколит в свете изменения критериев живорожденности. //Вопросы практической педиатрии. 2014; (3): 56-9.
11. Шаповалова В.В., Шармазанова О.П., Борткий М.О., Скарик Г.Р. /Комплексная диагностика некротического энтероколита у новорожденных. // Здоровье ребенка. 2018, №1 С. 100-106.
12. Якорнова Г.В., Ремизова И.И., Чистякова Г.Н., Устьянцева Л.С. Динамика провоспалительных цитокинов у детей, родившихся у женщин с осложненной беременностью, в зависимости от течения раннего периода адаптации. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2015; 60 (4): 50–6.
13. Ahle M, Drott P, Elfvin A, Andersson RE. /Maternal, fetal and perinatal factors associated with necrotizing enterocolitis in Sweden. A national case-control study. //PLoS One. 2018 Mar 23;13 (3) : e01943-52.
14. Biomarkers for infants at risk for necrotizing enterocolitis: clues to prevention// C. Young, R. Sharma, V. Mai, J. Neu // Pediatr. Res. - 2009. - № 65. - P. 91R-97R.
15. Bergholz R., Zschiegner M, Eschenburg G, Wenke K, Tiemann B, Roth B, Appl B, Reinshagen K, Sommerfeldt D, Ridderbusch I. Mucosal loss with increased expression of IL-6, IL-8, and COX-2 in a formula-feeding only neonatal rat model of necrotizing enterocolitis//J Pediatr Surg. 2013 Nov; 48 (11): 2301–7. 19.
16. Müller M.J., Paul T, Seeliger S. /Necrotizing enterocolitis in premature infants and newborns. //J Neonatal Perinatal Med. 2016 Sep 16;9(3):233-42.
17. Niño D.F., Sodhi C.P., Hackam D.J. /Necrotizing enterocolitis: new insights into pathogenesis and mechanisms. //Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2016 Oct;13 (10): P. 590-600.