

ПРЕДИКТОРНЫЕ БИОМАРКЕРЫ НЕКРОТИЗИРУЮЩЕГО ЭНТЕРОКОЛИТА У НОВОРОЖДЕННЫХ

Беликова Д.А.¹, Полянская Н.А.¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Автор, ответственный за переписку:

Беликова Дарья Александровна, ординатор кафедры госпитальной педиатрии с курсом ДПО ФГБОУ ВО ОмГМУ, dariabel7@gmail.com

Резюме

Некротизирующий энтероколит является одной из ведущих причин смертности среди новорожденных. Как правило, диагностика некротизирующего энтероколита на ранней стадии затруднена, так как симптомы неспецифичны и широко варьируются, что является причиной поздней постановки диагноза и несвоевременного начала терапии. Основной целью литературного обзора является систематизировать данные об эффективности использования отдельных биомаркеров в качестве ранней диагностики некротизирующего энтероколита у новорожденных детей. Ранее считалось, что медиаторы воспаления и факторы, участвующие в иммунном ответе, могут быть ранними маркерами, но они также не имеют достаточной специфичности. В настоящее время активно ведутся поиски новых предикторов некротизирующего энтероколита, эффективность которых будет доказана высокой чувствительностью и специфичностью в отношении данного состояния. В работе проанализированы материалы как оригинальных статей, так и метаанализов отечественных и зарубежных авторов. Результаты научных исследований весьма противоречивы на счет эффективности фекального кальпротектина, клаудина, белка, связывающего жирные кислоты кишечника, сывороточный белок амилоида А. Однако, использование цитрулина, зонулина, эндокана, фекального микроРНК, лактата, интерлейкина-33, Trefoil factor 3 как предикторов развития некротизирующего энтероколита подтверждено многими исследованиями и является перспективными. Ввиду неоднозначности данной литературы требуется дальнейшее изучение взаимосвязи между показателями отдельных биомаркеров и тяжестью течения некротизирующего энтероколита.

Ключевые слова: некротизирующий энтероколит, биомаркеры, новорожденные, неонатология.

Список используемых сокращений:

ИЛ-33 – интерлейкина-33

НЭК – некротизирующий энтероколит

ФК- фекальный кальпротектин

I-FABP – белок, связывающий жирные кислоты

ApoSSA- сывороточный белок амилоида А

TFF3 – Trefoil factor 3

Введение

Некротизирующий энтероколит является одним из наиболее часто встречающихся заболеваний в периоде новорожденности, характеризующееся повреждением слизистой оболочки кишечника и приводящее к некрозу и перфорации кишечной стенки [1].

Несмотря на прогресс в ведении недоношенных новорожденных заболеваемость НЭК остается на том же уровне и в среднем составляет 1-5 случаев на 1000 детей [5, 21]. По данным зарубежных регистров встречаемость данной патологии варьируется от 2 до 7% среди недоношенных детей с гестационным возрастом 35 недель и от 5 до 22% у детей с массой тела менее 1000г. НЭК до сих пор является одной из ведущих причин смертности среди недоношенных новорожденных. В половине случаев необходимым является хирургическое вмешательство, летальность при этом составляет 20%, а при осложненном течении и наличии сочетанной патологии более 80%. К сожалению, выжившие дети впоследствии имеют высокий риск долгосрочных осложнений, особенно со стороны центральной нервной системы [12].

Цель работы – систематизировать литературные данные об отдельных биомаркерах для ранней диагностики НЭК. На

основании полученных сведений планируется оценить эффективность использования биомаркеров в качестве предикторов развития НЭК.

Основная часть. Известно, что НЭК – это результат воздействия множества неблагоприятных факторов, таких как: недоношенность, отягощенный акушерский анамнез, искусственное вскармливание и т. д [2]. Центральным звеном патогенеза является поражение слизистой кишечника, чему способствуют незрелость иммунной системы и желудочно-кишечного тракта, изменение микробиоты. Дисфункция кишечного барьера способствует воспалению и некрозу вследствие достаточно высокой проницаемости для патогенной микрофлоры [2, 11].

Диагноз НЭК базируется на клинических и рентгенологических данных, которые являются основой критериев Белла для верификации стадии заболевания [1]. Однако, многие исследователи и клиницисты утверждают, что данные критерии неспецифичны для НЭК, что вызывает трудности с дифференциальным диагнозом других заболеваний и состояний. Рентгенологические признаки расширенных петель кишечника и его утолщенной стенки также могут быть вызваны любой обструкцией, несвязанные с НЭК.

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости является дополнительным методом исследования. Последний метаанализ 11 исследований с участием 748 младенцев показал, что несколько результатов УЗИ кишечника были значимыми для диагностики заболевания. Ввиду некоторой ограниченности клинических и рентгенологических результатов в ранней диагностике НЭК, актуальным является поиск биомаркеров, патогномоничных для НЭК и позволяющих определить риски развития заболевания в раннем периоде [2].

Медиаторы воспаления и факторы, участвующие в иммунном ответе, включают в себя белки острой фазы, цитокины и хемокины [20, 24]. Однако, данные биомаркеры неспецифичны для НЭК, а их диагностическая точность изменяется в зависимости от степени тяжести НЭК и времени течения болезни. Считается, что наиболее перспективными маркерами для диагностики НЭК являются фекальный кальпротектин, клаудин, цитрулин, зонулин, эндокан, ИЛ-33, I-FABP, ApoSAA, клаудин, TFF3, фекальный микроРНК, а также уровень лактата в плазме крови [21, 25].

Фекальный кальпротектин — это цитозольный белок, продуцируемый нейтрофилами слизистой оболочки кишечника, высокий уровень которого является маркером воспаления желудочно-кишечного тракта [20]. Метаанализ тринадцати исследований показал, что ФК в кале заметно повышается у новорожденных с НЭК, при этом чувствительность и специфичность фекального ФК составляет от 76 до 100% [30]. Однако данные о роли ФК в ранней диагностике противоречивы. Так, в исследовании, которое включало 10 больных НЭК и 30 детей группы контроля, были отмечены широкие индивидуальные вариации ФК у недоношенных детей. Это ограничивает

использование ФК как прогнозирующего фактора НЭК. Малая информативность ФК была доказана в Российском проспективном сравнительном исследовании: в обеих группах наблюдалась общая тенденция к повышению ФК, однако, достоверных различий между группами в динамике не было выявлено [2, 3].

Клаудины — это белки плотных контактов, обеспечивающих целостность параклеточных барьеров, в том числе и кишечных соединений. В исследованиях было обнаружено снижение экспрессии клаудина-2 в кишечной ткани у трех недоношенных новорожденных с НЭК и всплеск повышенной экскреции клаудина-3. В исследовании, проведенном в Ирландии, было показано, что изменения уровня клаудина могут отражать изменения кишечной проницаемости и воспаления в контексте НЭК. Измерения клаудина можно использовать для прогнозирования развития НЭК. Но данные недостаточны для подтверждения прогностической и диагностической роли клаудинов при НЭК [11].

Уровень лактата плазмы крови является показателем нормального метаболизма кишечной флоры. Прогрессирующее ишемическое повреждение слизистой оболочки кишечника приводят к бактериальной транслокации и могут вызвать повышение лактата. В исследовании, проведенном в Норвегии, были отмечены высокие уровни лактата среди детей с НЭК по сравнению с группой контроля. Также показатели лактата в крови среди новорожденных с НЭК увеличивались с прогрессированием стадий НЭК. Эти данные также были подтверждены результатами исследования, проведенного в Китае: отмечались высокие уровни лактата в плазме крови у новорожденных на ранних стадиях НЭК [4, 19].

Исследование, проведенное в Америке, показало, что уровень цитрулина был ниже у новорожденных с НЭК по сравнению со здоровыми детьми контрольной группы ($p=0,02$) [18]. В эксперименте, проведенном на модели НЭК у недоношенных свиной, было выявлено снижение уровня цитрулина, предшествующее развитию НЭК [14, 23].

Активно исследуется роль белка зонулина в развитии заболеваний кишечника у новорожденных. Исследователи сравнивали концентрацию зонулина со значениями С-реактивного белка и прокальцитонина [26]. В результате оказалось, что уровень биомаркера был вдвое выше в группе новорожденных с НЭК, однако, не достигала статистической значимости. В противовес данным польского исследования, Khasanova S. S. et al установили, что уровень фекального зонулина на 7-й день жизни выше у новорожденных, у которых развился НЭК на $10 \pm 4,7$ день жизни [17].

В 2020 году китайские исследователи оценили роль фекального микроРНК (miR-223 и miR-451a) в качестве новых не инвазивных биомаркеров для ранней диагностики некротического энтероколита (НЭК) у недоношенных детей. В результате концентрация фекального микроРНК и кальпротектина были значимо выше в группе НЭК по сравнению с контрольной группой ($p < 0,009$). Таким образом изучение микроРНК как раннего биомаркера НЭК достаточно перспективно [9, 26].

Trefoil factor 3 является белком кишечного барьера, экспрессируемый бокаловидными клетками кишечника, обеспечивающих целостность слизистого барьера. При повреждении слизистой TFF3 попадает в кровоток, однако неспецифичен для НЭК. Однако комбинация TFF3

с другими биомаркерами кишечного повреждения и воспаления (I-FABP и AroSAA) является ранним предиктором исхода НЭК. Так, уровни TFF3 и SAA были выше у новорожденных со стадией ПИВ по сравнению с младенцами со стадиями НЭК IIA, IIB и IIIA [8, 18].

Недавние исследования выявили важную роль эндокана в контроле ключевых клеточных процессов, таких как адгезия, миграция и ангиогенез. Поэтому его можно рассматривать в качестве биомаркера эндотелиальной дисфункции и воспаления [6]. Так, исследователи из Турции определили, что уровни эндокана в сыворотке крови значительно выше в группе новорожденных с НЭК по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Более того, значения эндокана продолжали расти в последующие дни у пациентов с НЭК III стадии ($p < 0,05$) и были выше, чем у пациентов с НЭК II [7].

Те же выводы были сделаны о взаимосвязи Интерлейкина-33 и прогрессирования НЭК. ИЛ-33 продуцируется различными клетками, в том числе и слизистой оболочки кишечника в результате повреждения клеток или тканей. Недавние исследования продемонстрировали его экспрессию в эпителиальных клетках кишечника, а также увеличение уровня у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника. При исследовании ИЛ-33 у детей, больных НЭК, был выявлен рост уровня ИЛ-33 у новорожденных с НЭК III, в том числе и после оперативного вмешательства [7, 10].

Известно, что сывороточный белок AroSAA является достаточно чувствительным маркером сепсиса, а также в назначении антибактериальной терапии. Было определено, что оценка AroSAA в плазме, эффективно отличает случаи сепсиса и НЭК от контроля со

специфичностью от 55 до 95% и чувствительностью от 90 до 100%, в зависимости от порогового значения. При этом использование АроSAA в практику позволит избежать применение антибиотиков у новорожденных без сепсиса, однако не было выявлено различий в росте АроSAA уровня между сепсисом и случаями НЭК [8].

I-FABP или белок, связывающий жирные кислоты, экспрессируется энтероцитами, высвобождается в кровь после повреждения эпителиальных клеток и выводится с мочой. Исследования показывают, что высокие значения I-FABP в сочетании с печеночным FABP и TFF3 может отличать новорожденных с НЭК от детей с специфичностью 95%. Последнее исследование показало, что I-FABP в моче у новорожденных может быть прогностическим маркером развития НЭК, в отличие от сепсиса. Также при в исследовании уровней I-FABP в плазме и моче были значительно выше среди случаев с положительными результатами ультразвукового исследования и асцитом [5,

18]. Однако, по данным Coufal S. уровни I-FABP в плазме и моче имеют высокую специфичность, но умеренную чувствительность, что может ограничивать применение их как маркеров ранней диагностики [4, 8].

Заключение. В настоящее время диагностика НЭК основана на клинических и рентгенологических данных. Однако, они не являются специфическими, что вызывает трудности с дифференциальным диагнозом других заболеваний и состояний. Современные технологии способствовали открытию множества белков и других продуктов метаболизма, которые являются потенциальными маркерами НЭК. Но до сих пор среди исследователей нет единого мнения относительно отдельных биомаркеров для диагностики НЭК. Именно поэтому актуальным является поиск новых предикторов раннего развития НЭК, а также уточнение эффективности ранее известных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Svirsky A.A., Mahadin A.M., Lenkova A.A. Obstetric and perinatal risk factors for development of necrotizing enterocolitis in newborns. *Scientific aspirations* 2018;23:23
2. Khasanova S.S, Kamilova A.T. Dynamics of fecal zonulin values in premature children of the first two weeks of life. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2019, 64:(2):52–56
3. Sharyafetdinova G.R, Chubarova A.I. Fecal calprotectin for diagnosis of necrotizing enterocolitis in premature newborns in intensive care units and intensive care for newborns. *Eurasian Union of Scientists* 2018;5:50
4. Ahmed A. E, Hassan H, Abo-Halawa N. Lactate and intestinal fatty acid binding protein as essential biomarkers in neonates with necrotizing enterocolitis: ultrasonographic and surgical considerations. *Pediatrics and Neonatology* 2020;61:481-489
5. Alsaied A, Islam N, Thalib L. Global incidence of necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pediatr* 2020;20:344
6. Ares G, Buonpane C, Sincavage J et al. Caveolin 1 is associated with upregulated claudin 2 in necrotizing enterocolitis. *Sci Rep* 2019;9(1):4982
7. Cakir U, Tayman C, Yarci E. et al. Novel useful markers for follow-up of necrotizing enterocolitis: endocan and interleukin-33. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 2018; 33:2333-2341
8. Coufal S, Kokesova A, Tlaskalova-Hogenova H. et al. Urinary I-FABP, L-FABP, TFF-3, and SAA can diagnose and predict the disease course in necrotizing

- enterocolitis at the early stage of disease. *J Immunol Res* 2020;2020:7-10
9. Cheung N. P, Kathy Y. Y. C, Hygh S. L. et alю A Prospective Cohort Study of Fecal miR-223 and miR-451a as Noninvasive and Specific Biomarkers for Diagnosis of Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants. *Neonatology* 2020;117(5):555-561
10. Elfarargy M. S, Atef M.M, El-Deeb O.S. et al. Early bio- markers in neonatal necrotizing enterocolitis: a pilot study, *J. Popul. Ther. Clin. Pharmacol* 2019;6:1-8
11. Griffiths V, Assaf N, Khan R. Review of claudin proteins as potential biomarkers for necrotizing enterocolitis. *Ir. J Med Sci.* 2021:5-9
12. Gordon P. V, Swanson J. R, MacQueen B. C, Christensen R. D. A critical question for NEC researchers: can we create a consensus definition of NEC that facilitates research progress? *Semin Perinatol* 2017;41:7-14.
13. Fitzgibbons S. C. Mortality of necrotizing enterocolitis expressed by birth weight categories. *J Pediatr Surg.* 2009;44:1072-6.
14. Jawale N. Plasma Citrulline as a Biomarker for Early Diagnosis of Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants. *Am J Perinatol* 2020;30:5
15. Ho S. S. C, Keenan J.I., Day A.S. The role of gastrointestinal-related fatty acid-binding proteins as biomarkers in gastrointestinal diseases. *Dig Dis Sci* 2020; 65:376-90.
16. Hsueh W., Caplan M. S, Qu X-W, Tan X. et al. Neonatal necrotizing enterocolitis: clinical considerations and pathogenetic concepts. *Pediatric and Developmental Pathology* 2019;6:23
17. Khasanova S. S, Akhmedova D.I., Kamilova A.T. The Clinical Significance of Fecal Zonulin in Extremely Premature Babies. *American Journal of Medicine and Medical Sciences* 2019;9(8):75-79
18. Kokesova A. The intestinal fatty acid-binding protein as a marker for intestinal damage in gastroschisis. *LoS One* 2019;14:50-51
19. Lei G, Zhang J., Wang W., Chen M. Plasma D-lactate Levels in Necrotizing Enterocolitis in Premature Infant. *J Pediatr* 2016;26:10-15
20. Nakov R. Trefoil factor 3 is highly predictive of complete mucosal healing independently and in combination with C-reactive protein in patients with ulcerative colitis. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases* 2019;28:169-174
21. Neu J, Modi N, Caplan M. Necrotizing enterocolitis comes in different forms: historical perspectives and defining the disease. *Semin Fetal Neonatal Med* 2018;23:370-373
22. Pan X, Zhang D, Nguyen D. N. et al. Postnatal gut immunity and microbiota development is minimally affected by prenatal inflammation in preterm pigs. *Front Immunol* 2020;11:420
23. Robinson J. L, Smith V.A. Prematurity reduces citrulline-arginine-nitric oxide production and precedes the onset of necrotizing enterocolitis in piglets. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2018;315:638-649
24. Robinson J. R, Rellinger E. J, Hatch L. D. et al. Surgical necrotizing enterocolitis. *Semin Perinatol* 2017;41:70-79
25. Santhalingam T, Battersby C, Costeloe K, Modi N. Incidence of neonatal necrotising enterocolitis in high-income countries: a systematic review. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2018;103 (02):182-189
26. Tarko A. Zonulin: A Potential Marker of Intestine Injury in Newborns. *Research Article. Open Access* 2017;2017:5-6
27. Zhang H, Chen J, Wang Y et al. Predictive factors and clinical practice profile for strictures post-necrotising enterocolitis. *Medicine Baltimore* 2017;96(10):6273
28. van Zoonen A. G. J. F. Serial fecal calprotectin in the prediction of necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *J Pediatr Surg* 2019;54:455-459
29. Zozaya C. Incidence, treatment, and outcome trends of necrotizing enterocolitis in preterm infants: a multicenter cohort study. *Front Pediatr* 2020;8:188
30. Qu Y. Diagnostic value of fecal calprotectin in necrotizing enterocolitis: A meta-analysis. *Early Human Development* 2020;151(10):22