© Коллектив авторов, 2019

DOI: 10.24110/0031-403X-2019-98-6-71-78
https://doi.org/10.24110/0031-403X-2019-98-6-71-78

Н.Н. Гаджиева[1], А.А. Эюбова[1], Н.Ф. Панахова[1], И.А. Гафаров[2]

ПРЕДИКТОРНАЯ ЦЕННОСТЬ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ СЛИЗИСТЫХ ОБОЛОЧЕК КИШЕЧНИКА ДЛЯ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ РАЗВИТИЯ АТОПИЧЕСКОГО ДЕРМАТИТА У ДЕТЕЙ

[1]Кафедра детских болезней № 2, [2]кафедра медицинской физики и информатики, Азербайджанский Медицинский Университет, г. Баку, Республика Азербайджан

Целью исследования явилось прогнозирование формирования атопического дерматита (АтД) с первых дней постнатального периода на основании оценки состояния мукозального секрета кишечника. Материалы и методы исследования: в неонатальном периоде наряду с рутинными анализами в сыворотке венозной крови, взятой на 1–3-и сутки после рождения, методом иммуноферментного анализа определяли уровень MUC-2 (муцин-2) и ITF (интестинальный трефоловый фактор), которые отражают состояние слизистого барьера кишечника. Были обследованы 135 здоровых доношенных новорожденных детей с гестационным возрастом 37–42 нед. В зависимости от формирования АтД дети были подразделены на 2 группы: в 1-ю (основную) группу включены 89 (66%) детей с формированием АтД, во 2-ю (контрольную) группу вошли 46 (34%) детей без наличия какой-либо аллергической патологии. Результаты: гиперсекреция бокаловидных клеток, представленная в виде высокой концентрации MUC-2 с первых дней жизни, позволяет предположить поражение мукозального барьера кишечника под воздействием перинатальных факторов риска с формированием АтД на последующих этапах онтогенеза. Выраженные изменения уровня MUC-2 по сравнению с показателями ITF при АтД свидетельствуют о большей чувствительности этого компонента интестинального барьера к повреждающим воздействиям в антенатальном периоде. Заключение: показатели MUC-2 можно рассматривать как биомаркеры прогноза развития АтД у новорожденных детей, предрасположенных к атопии.

Ключевые слова: *новорожденные дети, атопия, мукозальный барьер, муцин 2, интестинальный трефоловый фактор.*

Цит.: *Н.Н. Гаджиева, А.А. Эюбова, Н.Ф. Панахова, И.А. Гафаров. Предикторная ценность молекулярных маркеров слизистых оболочек кишечника для прогнозирования развития атопического дерматита у детей. Педиатрия. 2019; 98 (6): 71–78.*

N.N. Gadzhieva[1], A.A. Eyubova[1], N.F. Panakhova[1], I.A. Gafarov[2]

PREDICTOR VALUE OF MOLECULAR MARKERS OF INTESTINAL MUCOUS MEMBRANES IN THE DEVELOPMENT OF ATOPIC DERMATITIS IN CHILDREN

[1]Pediatric Diseases Department № 2; [2]Department of Medical Physics and Informatics, Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

Objective of the research: to predict atopic dermatitis (AtD) formation from the first days of the postnatal period based on an assessment of the state of intestinal mucosal secretion. Materials and methods: in the neonatal period, along with routine analyzes in venous blood serum taken 1–3 days after birth, the level of MUC-2 and ITF, which reflect the state of the intestinal mucosa, were assessed by enzyme immunoassay. 135 healthy full-term newborns with gestational age of 37–42 weeks were examined. Depending on AtD formation children were divided into 2 groups: 1st (main) group included 89 (66%) children with AtD formation; 2nd (control) group included 46 (34%) children without any allergic pathology. Results: hypersecretion of goblet cells in the form

Контактная информация:
Гаджиева Нурангиз Низами кызы – к.м.н., асс. каф. детских болезней № 2 Азербайджанского медицинского университета
Адрес: Республика Азербайджан, AZ1022, г. Баку, ул. Самеда Вургуна, 167
Тел.: (99450) 332-05-04,
E-mail: nurangizhaciyeva@gmail.com
Статья поступила 6.03.19,
принята к печати 20.11.19.

Contact Information:
Gadzhiyeva Nurangiz Nizami kyzy – candidate of Med.Sci., assistant of Pediatric Diseases Department № 2, Azerbaijan Medical University
Address: Republic of Azerbaijan, AZ1022, Baku, Sameda Vurguna, 167
Tel.: (99450) 332-05-04,
E-mail: nurangizhaciyeva@gmail.com
Received on Mar. 6, 2019,
submitted for publication on Nov. 20, 2019

of a high MUC-2 concentration from the first days of life, suggests the damage to intestine mucosal barrier under the influence of perinatal risk factors with AtD formation at subsequent stages of ontogenesis. Marked changes in MUC-2 level compared with ITF indices in AtD indicate a greater sensitivity of this component of the intestinal barrier to damaging effects in the antenatal period. Conclusion: MUC-2 indices can be considered as biomarkers for predicting AtD development in newborns prone to atopy.

Keywords: *newborns, atopy, mucosal barrier, mucin 2, intestinal trefoil factor.*

Quote: *N.N. Gadzhieva, A.A. Eyubova, N.F. Panakhova, I.A. Gafarov. Predictor value of molecular markers of intestinal mucous membranes in the development of atopic dermatitis in children. Pediatria. 2019; 98 (6): 71–78.*

Рост распространенности аллергических болезней, учащение тяжелых клинических форм аллергической патологии выдвигают проблему аллергии на одно из первых мест в современной клинической медицине [1]. Среди аллергических заболеваний кожи у детей по распространенности преобладает атопический дерматит (АтД). Несмотря на широкое внедрение профилактики АтД, устойчиво сохраняется высокая частота данной патологии у детей [2]. Ведущая роль иммунных механизмов в патогенезе АтД не вызывает сомнения. Система врожденного иммунитета представляет собой базовые иммунологические защитные механизмы. Она включает физиологические барьеры, например, кожу, а также слизистые оболочки (СО) дыхательной системы и желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [2]. Слой слизи, выстилающий внутреннюю стенку кишечника, обеспечивает механическую защиту от патогенных микробов.

Нарушение функции защитного барьера СО кишечника играет важную роль в патогенезе АтД. Особый интерес при аллергических заболеваниях представляет структура эпителиального барьера ЖКТ [3, 4]. У больных АтД отмечается повышение проницаемости СО, через которые аллерген проникает в организм. Установлена взаимосвязь между показателями повышенной проницаемости СО кишечника и степенью тяжести АтД. Повреждение протективных механизмов, ограничивающих проникновение аллергена через барьерные системы, в конечном итоге сопровождается ассоциативным взаимодействием аллергена с иными клетками [5]. Благодаря современным молекулярно-генетическим методам исследования СО кишечника идентифицированы многочисленные, ранее не изученные маркеры СО. В результате существенно изменились представления о СО, в частности о молекулярных биомаркерах СО кишечника, в значительной степени определяющей здоровье человека.

Согласно современным представлениям, в тонком кишечнике, слепой кишке и проксимальных и дистальных отделах толстого кишечника экспрессируются муцины MUC-2, MUC-4, MUC-3 и MUC-17, при этом в неизмененной СО ЖКТ их локализация совпадает с распределением так называемых трефоловых пептидов, синтезируемых клетками Гоблета. Трефоловые факторы (TFF1–3) совместно с муцинами выполняют протективную и регенераторную функцию, участвуя в формировании гастроинтестинального барьера. Кишечная форма трефолового фактора благодаря своей компактной структуре чрезвычайно устойчива к действию кислот, протеолитическому расщеплению или тепловой деградации. Избыточный синтез TFF-3 происходит в местах повреждения ЖКТ, например при пептической язве или воспалительных заболеваниях кишечника [6, 7]. Пациенты, страдающие этими заболеваниями, имеют повышенный уровень TFF-3 в сыворотке крови. В противоположность трефоловому фактору, в исследованиях на новорожденных животных содержание неустойчивого к действию желчных кислот муцина MUC-2 в подвздошной кишке снижалось при создании у них экспериментального некротического энтероколита. Это снижение отразилось на уязвимости эпителия для патогенных бактерий и тяжести течения этой патологии. N.A. Louis и соавт. сообщают об индуцирующем влиянии гипоксии на экспрессию MUC-3 и ITF (интестинальный трефоловый фактор) СО кишечника, которые выполняют протективную функцию в условиях недостатка кислорода [8]. На основании проведенных исследований выявлено стимулирующее действие аллергических процессов на экспрессию MUC-2 и ITF СО кишечника. Покрывающий полость кишечника MUC-2 является основным компонентом преэпителиального барьера, который, формируя высокомолекулярный вязко-эластический слой, создает питательную среду для жизнедеятельности комменсальных бактерий кишечника. По данным A.B. Muir и соавт., колонизация комменсалов уменьшает IgE-базофильную ось и увеличивает стимуляцию TLR (Toll-like рецепторы), что способствует повышению толерантности [9]. Системное воспаление СО и уменьшение стимуляции TLR играют ведущую роль в превалировании Th2-типа ответа и формировании IgE-опосредованных аллергических заболеваний [9–11].

Данные литературы о механизмах внутриутробной сенсибилизации плода, особенностях слизистого барьера кишечника и других факторов, влияющих на ранние проявления АтД у детей, немногочисленны и носят достаточно противоречивый характер. Учитывая вышесказанное, целью настоящего исследования явилось прогнозирование формирования АтД с первых дней постнатального периода на основании оценки состояния мукозального секрета кишечника.

Материалы и методы исследования

Данное исследование было проведено согласно требованиям Азербайджанского Национаь-ного Комитета по биоэтике и этике науки и техники. Родители всех новорожденных дали письменное согласие на участие детей в этом исследовании после получения полной информации о масштабах и целях исследования. Научно-исследовательская работа выполнялась с 2015 по 2018 гг. на учебной базе кафедры педиатрии Азербайджанского медицинского университета и в Республиканском перинатальном центре в 2 этапа. На первом этапе работы были обследованы 135 здоровых доношенных новорожденных детей с гестационным возрастом 37–42 нед. Критериями исключения явились: мертворожденные; новорожденные с клинической манифестацией врожденных бактериальных и TORCH инфекций, подтвержденных лабораторными методами; врожденные пороки развития (за исключением мелких аномалий развития, не представляющих угрозы для жизни); наличие грубой неврологической симптоматики. Учитывая, что, наряду с поражением интестинального барьера, такие перинатальные факторы риска, как отягощенный аллергологический анамнез родителей, гестационный возраст и масса тела при рождении, могут играть определенную роль в формировании аллергической патологии у детей, для выявления непосредственной роли состояния слизистого барьера кишечника в развитии АтД мы исключили из настоящего исследования новорожденных с наличием этих факторов в анамнезе и создали однородные по гестационному возрасту и массе тела группы.

Анамнестические данные, полученные путем непосредственного опроса матерей и сведений из медицинской документации беременной, а также особенности течения раннего неонатального периода и уровень биомаркеров СО кишечника использовали для оценки влияния перинатальных факторов риска на формирование АтД. Для исключения влияния постнатальных патологий на уровень MUC-2 и İTF 3 определение их содержания проводили в 1-е сутки жизни в первые часы после рождения в технических остатках сыворотки венозной крови, взятой для рутинных анализов (общий анализ крови, определение группы крови и резус-фактора).

Новорожденные, выписанные из родильного дома, составившие катамнестическую группу, наблюдались в условиях поликлиники до годовалого возраста. Обследованные нами дети в зависимости от формирования АтД дети были подразделены на 2 группы: в 1-ю (основную) группу включены 89 (66%) детей с АтД, во 2-ю (контрольную) группу вошли 46 (34%) детей без наличия какой-либо аллергической патологии.

Клинико-лабораторное обследование пациентов проводили в соответствии со стандартами диагностики АтД. Диагноз АтД был поставлен на первом году жизни. Степень тяжести АтД у детей первого года жизни оценивали на основании полуколичественной шкалы SCORAD (severity scoring of atopic dermatitis – three item severity), разработанной и утвержденной Европейским обществом дерматовенерологов (Женева, 1993), основанной на объективных (интенсивность и распространенность кожных поражений) критериях. Дети основной группы в зависимости от тяжести АтД были подразделены на 3 подгруппы: 1-я подгруппа состояла из 13 (23,2%) детей с АтД легкой степени тяжести, во 2-ю подгруппу вошли 25 (44,6%) детей с АтД средней степени тяжести и в 3-ю подгруппу – 18 (32,2%) детей с АтД тяжелой степени.

Кровь забирали в пробирки с ЭДТА. После центрифугирования образцы сыворотки хранили при температуре –70 ^{0}C до проведения анализа. Уровень MUC-2 (муцин-2) (Cloud-Clone Corp, Houston, USA), ITF 3 (интестинальный трефоловый фактор) (Cloud-Clone Corp, Houston, USA) в образцах сыворотки крови измеряли методом иммуноферментного анализа и выражали в нг/мл.

Для статистического анализа полученных данных использованы методы вариационного, дискриминантного, дисперсионного, корреляционного и ROC-анализов. Вычислены средние значения полученных выборок (M), их среднеквадратические отклонения (σ), стандартные ошибки (m), 95% доверительные интервалы, минимальные (min) и максимальные (max) значения рядов, а также определены частоты появления искомых признаков (p%) в группах. Для сравнения и вероятностной оценки различий между значениями сравниваемых групп использовали дисперсионный анализ (F-Fisher) и непараметрические ранговые критерии: U-критерий Уилкоксона (Mann–Whitney) и KU-критерий Краскеля–Уоллиса (Kruskel–Wallis). Для анализа качественных признаков в изучаемых группах предварительно составляли кросс-таблицы 2x2 и 2xn. Для определения степени сопряженности между качественными признаками использовали метод χ^2-Пирсона (Pearson Chi-Square). Корреляционный анализ проводили для оценки тесноты связи как качественных, так и количественных признаков наблюдаемых в группах. В качестве анализа использовали непараметрический ранговый корреляционный анализ ρ-Спирмена (ρ-Spearman).

Для оценки эффективности диагностической значимости теста определяли его специфичность и чувствительность. Дополнительно для каждого теста определены предсказательные полезности положительного (pPV) и отрицательного (nPV) результатов, а также для практического применения – отношения правдоподобия положительного (LR+) и отрицательного результатов (LR–). На основе значений чувствительности и специфичности построена характеристическая ROC-кривая (receiver operating characteristic). Количественную оценку ROC-кривой определяли площадью под кривой. На основании координатов ROC-кривой определены Cut of Point (точки отсечения).

При всех статистических анализах порогом для отклонения «нулевой гипотезы» считали при $p \leq 0,05$. Все вычисления проводили на электронной таблице Excel-2013 и SPSS-20.

Результаты и их обсуждение

При анализе анамнестических данных установлено, что новорожденные дети, в последую-

Таблица 1

Данные акушерского анамнеза матерей в сравниваемых группах детей

Анамнестические данные	1-я группа (n=89)	2-я группа (n=46)	χ^2	p
Соматические заболевания	0	8 9%	4,395	0,036
Гинекологические заболевания	31 67,4%	29 32,6%	14,88	0,001
Плацентарная недостаточность	22 47,8%	36 40,4%	0,673	0,412
Преэклампсия	3 6,5%	5 5,6%	0,044	0,833
Оперативное родоразрешение	27 58,7%	60 67,4%	1,006	0,316

щем реализовавшие АтД, родились от беременностей высокого риска (анемия, угроза прерывания беременности, преэклампсия у матерей) (табл. 1).

Соматические заболевания наиболее часто наблюдались у матерей детей 2-й группы, в которой частота встречаемости этой патологии составила 9% (8) (p=0,036), в то время как частота встречаемости гинекологических заболеваний достоверно превалировала у матерей детей с АтД (p<0,001).

Общеизвестно, что рождение методом кесарева сечения ограничивает обсеменение новорожденного материнской микрофлорой и неблагоприятно отражается на становлении постнатального иммунитета. Согласно исследованиям швейцарских ученых, в крови детей, родившихся путем кесарева сечения, отмечается дисбаланс Th1- и Th2-ассоциированных хемокинов. Результаты нашего исследования также показывают, что новорожденные, реализовавшие АтД в последующем, чаще рождались с помощью кесарева сечения, однако разница в отношении этого фактора не являлась достоверной.

В табл. 2 приведена краткая характеристика новорожденных детей сравниваемых групп.

Новорожденные 1-й и 2-й групп не отличались достоверно по таким показателям, как гестационный возраст, масса тела при рождении. Была выявлена высокая оценка по шкале Апгар на 1-й минуте жизни в 1-й группе детей (p=0,005), также высокая оценка по шкале Апгар на 5-й минуте жизни отмечалась в 1-й группе новорожденных, у которых в дальнейшем формировался АтД (p=0,022).

Учитывая, что кишечник играет важную роль в развитии аллергии, нами было оценено состояние этого органа на основе простого неинвазивного метода, каким является копрологическое исследование фекалий (табл. 3).

На основании результатов копрологического исследования фекалий в неонатальном периоде у детей сравниваемых групп было выявлено, что лейкоциты и мыла в обеих группах обнаруживались с одинаковой частотой. Эритроциты, крахмал, нейтральный жир и слизь значительно чаще встречались в каловых массах новорожденных с последующим развитием АтД. Достоверность была выявлена в отношении слизи и йодофильной микрофлоры. На наш взгляд, повышение секреции слизи можно объяснить, тем, что слизь служит поверхностью для связывания бактерий

Таблица 2

Краткая характеристика новорожденных детей сравниваемых групп (M±m; 95% ДИ)

Показатели		n	Среднее значение	Стандартная ошибка	95% ДИ для среднего значения		F	p	Pu
					нижняя граница	верхняя граница			
Срок гестации, нед	АтД+	89	38,8	0,1	38,5	39	6,491	0,012	0,012
	АтД–	46	38,3	0,1	38	38,5			
	Итого	135	38,6	0,1	38,4	38,8			
Масса тела, кг	АтД+	89	3,21	0,04	3,13	3,28	0,122	0,727	0,789
	АтД–	46	3,23	0,07	3,09	3,38			
	Итого	135	3,22	0,03	3,15	3,28			
Оценка по шкале Апгар, баллы: на 1-й минуте	АтД+	89	7,7	0,08	7,53	7,86	8,687	0,004	0,005
	АтД–	46	7,24	0,14	6,95	7,53			
	Итого	135	7,54	0,08	7,39	7,69			
на 5-й минуте	АтД+	89	8,43	0,06	8,31	8,55	5,262	0,023	0,022
	АтД–	46	8,2	0,08	8,03	8,36			
	Итого	135	8,35	0,05	8,25	8,44			

Таблица 3

Результаты копрологического исследования фекалий у детей сравниваемых групп

Результаты	1-я группа n=89	2-я группа n=46	F	p
Лейкоциты (более 10 в п/з)	22 (39,3%)	36 (51,5%)	6,491	0,432
Эритроциты (более 2 в п/з)	17 (30,4%)	5 (7,7%)	2,016	0,366
Нейтральный жир	29 (51,8%)	30 (43,8%)	8,687	0,345
Жирные кислоты	22 (39,3%)	15 (21,9%)	5,262	0,428
Мыла	47 (83,9%)	21 (30,8%)	6,491	0,200
Крахмал	26 (58,3%)	11 (16%)	4,016	0,655
Слизь	37 (66,1%)	9 (13%)	18,687	0,000
Йодофильная флора	23 (41%)	11 (16%)	15,262	0,004

Таблица 4

Влияние характера вскармливания на формирование АтД у наблюдаемых детей

Степень тяжести АтД по шкале SCORAD	Естественное вскармливание	Искусственное вскармливание	Смешанное вскармливание	χ^2	p
Легкая	5 18,5%	7 26,9%	6 16,7%	3,436	0,488
Среднетяжелая	13 48,1%	10 38,5%	22 61,1%		
Тяжелая	9 33,3%	9 34,6%	8 22,2%		

и тем самым создает условия для персистенции и колонизации кишечника. Преобладание йодофильной микрофлоры также косвенно отражает наличие дисбиоза кишечника, создающего условия для распространения липополисахарида через кишечную стенку с последующим повреждением эпидермальной структуры.

Согласно данным литературы, раннее прикладывание к груди матери и последующее грудное вскармливание дают существенные преимущества ребенку, как в отношении созревания его иммунной системы, так и для формирования микробиоты кишечника. Как видно из табл. 4, достоверного влияния характера вскармливания на тяжесть АтД не было выявлено (p=0,488).

Следующим этапом нашего исследования явилось сравнение уровня маркеров интестинального барьера в сравниваемых группах методом вариационной статистики.

Были выявлены более высокие концентрации MUC-2 и ITF 3 в первые дни постнатального периода в группе детей с последующим формированием АтД. Достоверный характер эта разница между группами имела не только в отношении значений MUC-2, но также и в отношении показателей ITF 3. Если в основной группе уровень MUC-2 в среднем составил 43,6±5,3 mg/L (95% ДИ 33,1–54,2), то в контрольной группе – 1,7±0,7 mg/L (95% ДИ 0,3–3,2, F=13,433, p<0,001).

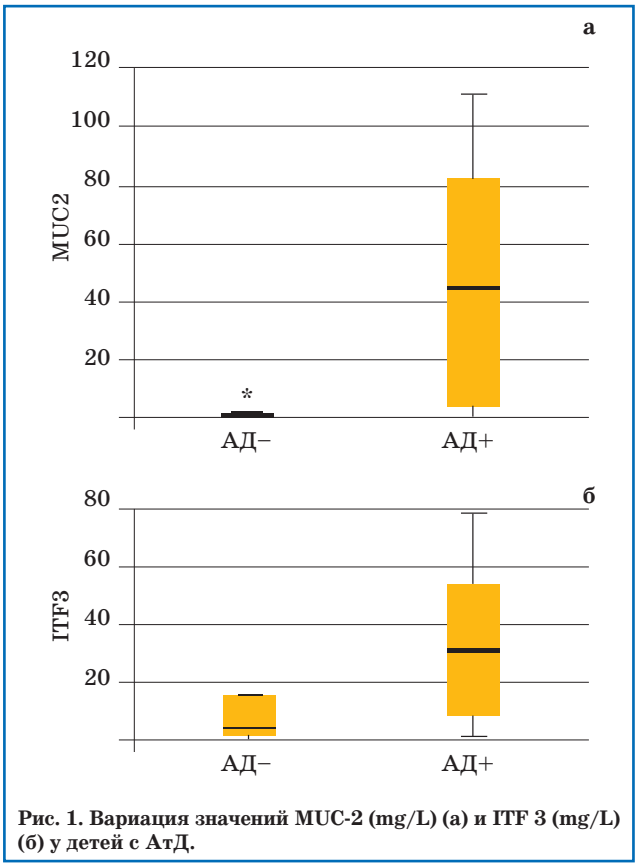
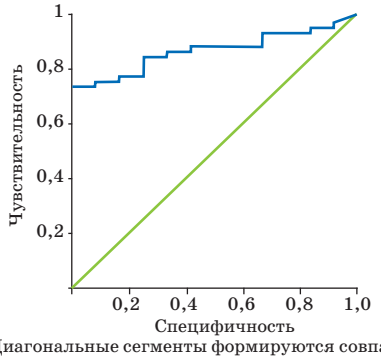


Рис. 1. Вариация значений MUC-2 (mg/L) (а) и ITF 3 (mg/L) (б) у детей с АтД.

Для выявления значимости изучаемых маркеров в прогнозировании АтД нами проведен

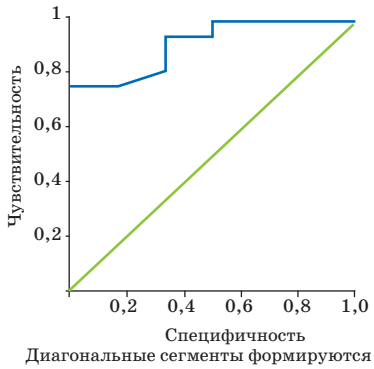


Площадь под кривой

Тестовая переменная(ые): MUC-2

Площадь	Стандартная ошибка	Асимптотическая значимость	Асимптотический 95% ДИ	
			нижняя граница	верхняя граница
,863	,043	,000	,778	,948

Рис. 2. Результаты ROC-анализа для MUC-2.



Площадь под кривой

Тестовая переменная(ые): ITF3

Площадь	Стандартная ошибка	Асимптотическая значимость	Асимптотический 95% ДИ	
			нижняя граница	верхняя граница
,915	,048	,001	,820	1,000

Рис. 3. Результаты ROC-анализа для ITF 3.

ROC-анализ с вычислением чувствительности, специфичности и порогового значения обоих маркеров MUC-2 и ITF 3 (рис. 2 и 3).

При анализе полученных данных для MUC-2 установлено, что наибольшая площадь под ROC-кривой составила 0,863±0,043 при 95% ДИ: 0,778–0,948 (p<0,001). Для ITF 3 наибольшая площадь под ROC-кривой составила 0,915±0,048 при 95% ДИ: 0,820–1,000 (p=0,001). Полученные результаты подтверждают высокую диагностическую значимость этих маркеров для прогнозирования данной патологии.

При анализе уровня интестинальных факторов в зависимости от тяжести АтД нами установлен достоверно высокий уровень MUC-2 при тяжелой форме АтД по сравнению с легкой формой: 69,2±8,2 mg/L против 27,3±8,5 mg/L соответственно (p=0,001).

Аналогичная зависимость установлена также и в отношении ITF 3: при тяжелой форме АтД 39,5±5,7 mg/L, при легкой – 18,7±4,3 mg/L (p=0,038) (табл. 5). Мы полагаем, что повышение экспрессии MUC-2 бокаловидными клетками СО кишечника имеет компенсаторный характер в условиях ее повреждения на фоне перинатальных факторов риска. Однако, несмотря на усиленную экспрессию в условиях перинатальной гипоксии, воспалительные процессы сопровождаются характерным преобразованием муцинов: сульфатирование снижается, а сиалирование увеличивается, что приводит к снижению резистентности муцина к бактериальному воздействию и способствует повышению проницаемости слизистого барьера кишечника [6, 12, 13].

При проведении корреляционного анализа между уровнем структурных и функциональных компонентов мукозального барьера кишечника и степенью клинических проявлений АтД обнаружена статистически значимая зависимость (рис. 4).

Установлена достоверная положительная зависимость между концентрацией MUC-2 и оценкой по шкале SCORAD (p=0,407; p=0,002). Аналогичная зависимость между уровнем ITF 3 и шкалой SCORAD также выявлена, но данная зависимость представляется относительно умеренной (ρ=0,389; p=0,004) (рис. 4).

Гиперсекреция бокаловидных клеток, представленная в виде высокой концентрации MUC-2 с первых дней жизни, позволяет нам предположить поражение мукозального барьера кишечника под воздействием перинатальных факторов риска с повышением проницаемости СО, нарастанием потока антигенов и постепенным формированием АтД на последующих этапах онтогенеза. Выраженные изменения уровня MUC-2 по сравнению с показателями ITF 3 при АтД свидетельствуют о большей чувствительности этого компонента интестинального барьера к повреж-

Таблица 5

Значения MUC-2 и ITF 3 при различной степени тяжести АтД у наблюдаемых детей

Показатели		n	Среднее значение	Стандартная ошибка	95% ДИ для среднего значения		F	p	Pu
					нижняя граница	верхняя граница			
MUC-2, mg/L	Легкая степень АтД	13	27,3	8,5	8,8	45,9	9,19	<0,001	<0,001
	Среднетяжелая степень АтД	22	28,9	7,1	14	43,7			
	Тяжелая степень АтД	21	69,2	8,2	52	86,3			
	Итого	56	43,6	5,3	33,1	54,2			
ITF 3, mg/L	Легкая степень АтД	10	18,7	4,3	8,9	28,5	3,778	0,03	0,038
	Среднетяжелая степень АтД	33	26,9	3,2	20,5	33,4			
	Тяжелая степень АтД	11	39,5	5,7	26,8	52,2			
	Итого	54	28	2,5	22,9	33			

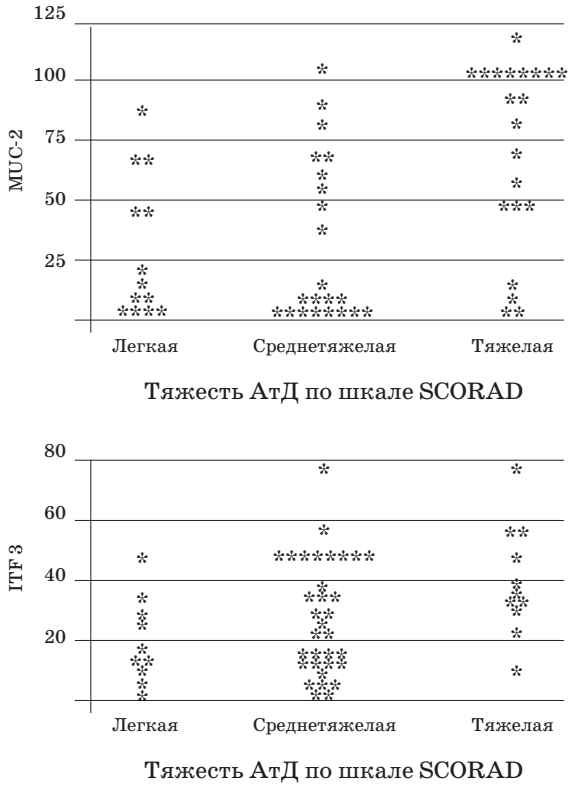


Рис. 4. Корреляционный анализ между уровнем структурных и функциональных компонентов мукозального барьера кишечника и степенью клинических проявлений АтД.

дающим воздействиям в антенатальном периоде.

Для определения порогового уровня показателей интестинальных маркеров определены точки отсечения (cut if of point), при которых выявлены специфичность и чувствительность этих маркеров (табл. 6).

Как видно из табл. 6, оба маркера можно использовать в практической медицине для прогнозирования развития АтД с первых дней жизни, так как отношение правдоподобия (LR+) оценивается как отлично, а отношение (LR–) – как посредственно.

Таким образом, поражение слизистого барьера кишечника под воздействием перинатальных

Таблица 6

Информативность мукозальных маркеров в прогнозировании развития АтД у детей

Показатели	MUC-2	ITF 3
Порог	>7,1	>11,5
Чувствительность, %	73,2±5,9	75,9±5,8
Специфичность, %	100	100
Общая диагностическая значимость, %	77,9±5	78,3±5,3
pPV, %	100	100
nPV, %	44,4±9,6	31,6±10,7
LR+	отлично	отлично
LR–	посредственно	посредственно

факторов риска является инициирующим и поддерживающим фактором атопии, а выявление наиболее значимых ранних маркеров риска развития АтД позволит выделить группу риска по развитию постнатальной аллергической патологии и разработать комплекс лечебно-профилактических мероприятий, направленных на предотвращение формирования АтД.

Заключение

Гиперпродукция бокаловидных клеток кишечника с первых дней жизни отражает наличие системной воспалительной реакции СО, что может иметь существенное значение в иммунопатогенезе АтД. Наличие зависимости между уровнем MUC-2 и ITF 3, измеренным в первые дни жизни, и риском формирования АтД позволяет нам предложить использование этих маркеров для прогнозирования и мониторинга дальнейшего течения АтД.

Финансирование: *источник не указан.*

Конфликт интересов: *авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.*

Gadzhieva N.N. 0000-0002-6413-4409
Eyubova A.A. 0000-0002-7689-7008
Panakhova N.F. 0000-0002-9159-0880
Gafarov I.A. 0000-0002-7725-2842

Литература

1. *Homburger HA, Hamilton RG.* Allergic Diseases. ClinicalKey.com, 2016: 1057–1070.

2. *Ebisawa M, Ballmer-Weber BK, Vieths S, Wood RA.* Food Allergy: Molecular Basis and Clinical Practice. Chemical Immunology and Allergy, S. Karger. 2015; 101: 278.

3. *Бельмер С.В.* Концепция пищевого программирования: общие положения и частные примеры. Лечащий врач. 2015; 2: 78–82.

4. *Eichenfield LF, Tom WL, Chamlin SL, Feldman SR, Hanifin JM, Simpson EL, Berger TG, Bergman JN, Cohen DE, Cooper KD, Cordoro KM, Davis DM, Krol A, Margolis DJ, Paller AS, Schwarzenberger K, Silverman RA, Williams HC, Elmets CA, Block J, Harrod CG, Smith Begolka W, Sidbury R.* Guidelines of care for the management of atopic dermatitis: section 1. Diagnosis and assessment of atopic dermatitis. Journal American Academy Dermatol. 2014; 70: 338.

5. *Sivanandham V.* Free radicals in health and diseases. Pharmacol. Online. 2011; 11: 1062–1077.

6. *Macfarlane S, Woodmansey EJ, Macfarlane GT.* Colonization of MUC in by Human Intestinal Bacteria and Establishment of Biofilm Communities in a Two-Stage Continuous Culture System. Appl. Environ. Microbiol. 2005 Nov; 71 (11): 7483–7492.

7. *Sodhi CP, Neal MD, Siggers R, Sho S, Ma C, Branca MF, Prindle T Jr, Russo AM, Afrazi A, Good M, Brower-Sinning R, Firek B, Morowitz MJ, Ozolek JA, Gittes GK, Billiar TR, Hackam DJ.* Intestinal epithelial toll-like receptor 4 regulates goblet cell development and is required for necrotizing enterocolitis in mice. Gastroenterology. 2012 Sep; 143 (3): 708–718.e5. doi: 10.1053/j.gastro.2012.05.053. Epub 2012 Jul 13.

8. *Louis NA, Hamilton KE, Canny G, Shekels LL, Ho SB, Colgan SP.* Selective induction of mucin-3 by hypoxia in intestinal epithelia. J. Cell Biochem. 2006; 99 (6): 1616–1627.

9. *Muir AB, Benitez AJ, Dods K, Spergel JM, Fillon SA.* Microbioma and its impact on gastrointestinal atpopy. Allergy. 2016; 71 (9): 1256–1263.

10. *Наринская Н.М.* Роль функциональных нарушений моторики кишечника у детей с атопическим дерматитом (механизм развития, диагностика, коррекция): Автореф. дисс. … канд. мед. наук. М., 2015.

11. *Вялкова А.А., Гордиенко Л.М., Мотыженкова О.В.* Патология желудочно-кишечного тракта у детей. Учебное

пособие для аспирантов, обучающихся по специальности 14.01.08. «Педиатрия». Оренбург: ОрГМУ, 2016: 169.

12. *Курбачева О.М., Амантурлиева М.Е.* Роль барьерной функции слизистых оболочек при аллергических заболеваниях и при сублингвальной аллерген-специфической иммунотерапии. Бюллетень Сибирской медицины. 2017; 16 (2): 32–46.

13. *Holloway JW.* Genetics and Epigenetics of Allergic Diseases and Asthma. Section A. Basic Sciences Underlying Allergy and Immunology. ClinicalKey.com, 2016: 343–360.

© Коллектив авторов, 2019

DOI: 10.24110/0031-403X-2019-98-6-78-85
https://doi.org/10.24110/0031-403X-2019-98-6-78-85

В.К. Пожарищенская, И.В. Давыдова, К.В. Савостьянов, А.А. Пушков

КЛИНИКО-АНАМНЕСТИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА ФОРМИРОВАНИЯ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ДИСПЛАЗИИ У НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» МЗ РФ, г. Москва, РФ

Наряду с такими общеизвестными факторами риска формирования бронхолегочной дисплазии (БЛД), как низкая масса тела при рождении, недоношенность, респираторный дистресс-синдром в неонатальном периоде, длительная кислородозависимость, существенную роль в развитии данного заболевания у детей играют генетические факторы. В частности, генетическая детерминация формирования БЛД возможна при наличии полиморфизмов генов протеолитических ферментов, цитокинового каскада, сурфактантов, антиоксидантов и др. Целью нашего исследования являлись выявление генетических факторов предрасположенности к формированию БЛД у недоношенных детей в РФ и сопоставление их с клинико-анамнестическими факторами риска формирования данного заболевания. Материалы и методы исследования: в исследование включены 200 недоношенных детей, рожденных до 37-й недели гестационного возраста. В основную группу вошли дети, сформировавшие БЛД (n=100), в группу контроля – не сформировавшие БЛД (n=100). Геномная ДНК была выделена из образцов сухих пятен крови методом фенол-хлороформной экстракции. Дальнейшее генотипирование проведено с использованием метода ПЦР в режиме реального времени на термоциклере «ABI StepOnePlus» («Applied Biosystems», США). Выявлены возможные ассоциации между частотами аллелей и генотипов вариантов генов *FGFR4* (rs376618, rs1966265), *FGFR2* (rs2981579, rs1219648), *SFTPA1* (rs4253527), *SFTPA2* (rs121917737, rs121917738), *SFTPB* (rs137853202), *SFTPC* (rs121918559, rs121918560, rs121917834, rs34957318, rs121917835, rs121917836, rs121918560), *MMP2* (rs7201, rs17301608, rs243865), *MMP9* (rs20544, rs3918242, rs17576), *MMP12* (rs2276109, rs652438), *MMP16* (rs2664352), *PTPN22* (rs2476601), *HLA-DRA* (rs9268645), *TAGAP* (rs1738074), *TYK2* (rs34536443, rs2304256), *LOC102823878* (rs 694739) и формированием БЛД. Результаты: варианты rs652438 и rs694739 были ассоциированы с формированием БЛД у недоношенных детей. Достоверно чаще в группе недоношенных детей, сформировавших БЛД, по сравнению с группой контроля встречался аллель C (p=0,02, ОШ 1,78 (95% ДИ 1,09–2,9)), генотипы CC (p=0,03, ОШ 3,2 (95% ДИ 0,84–12,18)) и TC (p=0,03, ОШ 1,39 (95% ДИ 0,76–2,55)) варианта g.102736642T>C (rs652438) гена *MMP12* и аллель C (p=0,004, ОШ 1,8 (95% ДИ 1,21–2,67)), генотипы TC (p=0,0004, ОШ 1,05 (95% ДИ 0,57–1,96)) и CC (p=0,0004, ОШ 3,02 (95% ДИ 1,32–6,91)) варианта rs 694739 гена *LOC102823878*. Заключение: в эру персонифицированной терапии обнаружение полиморфизмов генов, ассоциированных с формированием БЛД, может помочь в развитии новых стратегий профилактики и лечения данного заболевания. Дальнейшие исследования вариантов генов необходимы для выявления генетической детерминации формирования БЛД у недоношенных детей.

Ключевые слова: *бронхолегочная дисплазия, респираторный дистресс-синдром, недоношенные дети, генотипирование, полимеразная цепная реакция, полиморфизм генов-кандидатов.*

Контактная информация:
Пожарищенская Валерия Константиновна – аспирант ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» МЗ РФ
Адрес: Россия, 119991, г. Москва, Ломоносовский пр-т, 2, стр. 1
Тел.: (925) 855-34-56, **E-mail:** le16ra@mail.ru
Статья поступила 2.04.19, принята к печати 20.11.19.

Contact Information:
Pozharischenskaya Valeria Konstantinovna – postgraduate student of the National Medical Research Center of Children's Health
Address: Russia, 119991, Moscow, Lomonosovskiy prospect, 2/1
Tel.: (925) 855-34-56, **E-mail:** le16ra@mail.ru
Received on Apr. 2, 2019, submitted for publication on Nov. 20, 2019