

С.В. Минаев¹, А.Н. Обедин¹, Ю.Н. Болотов¹, Е.А. Товкань², А.В. Исаева¹, Т.А. Хоранова¹, Р.М. Тохчуков², Е.В. Степанова³

¹ ГБОУ ВПО «Ставропольская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития РФ

² ГБУЗ СК «Краевая детская клиническая больница», Ставрополь

³ ФМБА ФКУ «ГБ МСЭ по Ставропольскому краю», Ставрополь

Прогностическая значимость кателицидина у новорожденных

Контактная информация:

Минаев Сергей Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой детской хирургии с курсом анестезиологии и реаниматологии ГБОУ ВПО «Ставропольская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения и социального развития РФ

Адрес: 355017, Ставрополь, ул. Мира, д. 310, тел.: (962) 450-76-53, e-mail: sminaev@yandex.ru

Статья поступила: 19.02.2012 г., принята к печати: 12.05.2012 г.

Актуальность. У новорожденных в раннем послеоперационном периоде после хирургического лечения врожденной патологии желудочно-кишечного тракта нередко развиваются гнойно-септические осложнения. **Цель исследования:** определение прогностической значимости кателицидина (LL-37) как маркера развития воспалительных осложнений в послеоперационном периоде у новорожденных с пороками развития ЖКТ. **Пациенты и методы.** В исследование был включен 21 новорожденный с врожденной или кишечной непроходимостью. Всем детям выполнена хирургическая коррекция порока. Дети были разделены на 2 группы: группа 1 (n = 10) — новорожденные с гнойно-воспалительными осложнениями после проведения оперативного вмешательства (несостоятельность анастомоза — 2, перитонит с илеусом — 3, сепсис и пневмония — 5); группа 2 (n = 11) — дети, не имевшие осложнений после оперативного вмешательства. Референтную группу составили здоровые новорожденные (n = 20). У всех детей определяли в плазме крови уровень кателицидина LL-37 (BCM Diagnostics). Пациентам 1-й и 2-й групп концентрацию LL-37 дополнительно определяли на 1, 3, 7 и 14-е послеоперационные сутки. **Результаты.** При сравнении показателей кателицидина в исследуемых группах статистически значимое различие ($p < 0,05$) было выявлено лишь на 1-е сутки после проведения оперативного лечения. При исследовании различий уровня LL-37 в сыворотке крови у детей референтной группы с новорожденными 1-й и 2-й групп во все дни были обнаружены статистически достоверные различия ($p < 0,01$). **Заключение.** Определение уровня кателицидина является эффективным для прогноза послеоперационных осложнений при коррекции пороков развития желудочно-кишечного тракта.

Ключевые слова: новорожденные, врожденные пороки желудочно-кишечного тракта, кателицидин.

65

S.V. Minaev¹, A.N. Obedin¹, Yu.N. Bolotov¹, E.A. Tovkan², A.V. Isaeva¹, T.A. Horanova¹, R.M. Tohchukov², E.V. Stepanova³

¹ Stavropol State Medical Academy, Russia

² Regional Clinical Pediatric Hospital, Stavropol, Russia

³ FMBA PKU «GB ITU in the Stavropol Region», Stavropol, Russia

Prognostic significance of katellicidin in neonates

Background. Newborns often develop purulent septic complications soon after surgical treatment of inherent gastrointestinal pathology. **The aim:** to define the prognosis significance of catellicidine (LL-37) as the marker of inflammatory complications during the post-operation period in neonates with gastrointestinal pathologies. **Patients and methods.** 21 newborns with inherent intestinal obstruction were included into the study. Each child received surgical correction of the defect. The children were divided into 2 groups: group 1 (n = 10) — newborns with purulent inflammatory complications after the operation (anastomosis failure — 2, peritonitis with uleus — 3, sepsis and pneumonia — 5); group 2 (n = 11) — children with no post-surgery complications. Healthy newborns formed the reference group (n = 20). The level of catellicidine LL-37 in the blood plasma was determined in all the children at delivery (BCM Diagnostics). Patients in groups 1 and 2 had their catellicidine LL-37 concentration measured on the 1,3,7 and 14th day after surgery. **Results.** A statistically significant ($p < 0,05$) difference in catellicidine was revealed only on the first day. While investigating the difference in LL-37 levels in the blood serum between children from the reference group and children from groups 1 and 2, statistically significant differences were found on all days. **Conclusion.** Determining the catellicidine level is an effective way of predicting post-surgery complications in the correction of developmental gastrointestinal defects.

Key words: neonates, congenital malformation, gastrointestinal tract, LL-37.

Проблема развития послеоперационных осложнений у новорожденных с врожденной патологией желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) все еще остается актуальной проблемой детской хирургии [1, 2]. Причиной гнойно-воспалительных осложнений в данной группе пациентов являются плохое кровоснабжение стенки кишечника, агрессивность хирургического вмешательства, а также анатомо-физиологические особенности организма новорожденного [3, 4]. Все вышеперечисленные факторы способствуют развитию неблагоприятных исходов у новорожденных после хирургических вмешательств.

В последние годы увеличился интерес исследователей к антимикробным пептидам и белкам, содержащимся в пероксидаза-отрицательных гранулах нейтрофилов, и в частности, к кателицидину (LL-37) [5].

Эндогенные антимикробные пептиды и белки представляют собой небольшие молекулы, построенные из аминокислот. Они являются важной составляющей врожденной иммунной системы, которая обеспечивает защиту против широкого спектра бактерий, грибов и вирусов [6]. Несмотря на то, что о существовании антимикробных пептидов и белков известно уже достаточно времени, только недавно интерес к этим молекулам перешел из плоскости фундаментальных исследований иммунной системы в клиническую область. Результаты последних исследований привели к однозначным выводам о том [7, 8], что дефекты в экспрессии или функционировании антимикробных пептидов могут объяснить ряд аспектов патогенеза разнообразных заболеваний человека (дизентерия, кариез, atopический дерматит, муковисцидоз и др.).

В настоящее время определено наличие кателицидина не только в нейтрофилах, но и в лимфоцитах и моноцитах, в сквамозном эпителии (рта, языка, пищевода, шейки матки и вагины), эпителии легочной ткани, кератиноцитах при воспалительных заболеваниях и эпидидимите [9]. В проведенных исследованиях было установлено, что антибактериальный С-концевой фрагмент hCAP18 — LL-37 (37 аминокислот) — проявляет антимикробную активность как против грамотрицательных, так и против грамположительных бактерий, грибов, некоторых вирусов и простейших. Этот пептид оказывает синергический антибактериальный эффект с дифензинами (небольшие катионные пептиды, которые воздействуют на микроорганизмы путем нарушения проницаемости мембран, образуя ионные каналы). LL-37 может связывать липополисахариды и нейтрализовать их способность индуцировать эндотоксический шок [10]. Этот пептид является важным фактором реэпителизации ран; также была показана его ангиогенная активность *in vivo* и *in vitro*. Кроме того, LL-37 функционирует в качестве хемотаксического агента для нейтрофилов, моноцитов и Т-клеток [11, 12].

Изменение концентрации LL-37 в сыворотке крови отмечается при ряде заболеваний (пневмония, муковисцидоз, саркоидоз и др.) [7, 10]. В то же время отсутствуют данные о связи его концентрации с развитием гнойно-септических осложнений после оперативного лечения аномалий развития кишечника у новорожденных.

Цель исследования: определение прогностической значимости кателицидина (LL-37) как маркера развития воспалительных осложнений в послеоперационном периоде у новорожденных с пороками развития ЖКТ.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование был включен 21 новорожденный, находившийся на лечении в детской краевой клинической больнице Ставрополя в 2010–2011 годах. Все дети относились к группе с высокой степенью риска развития послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений, так как присутствовал хотя бы один из следующих факторов: 1) позднее поступление новорожденных на этап оказания специализированной помощи; 2) транспортировка неспециализированным транспортом с несоблюдением стандартов; 3) длительная (более 15 мин) гипотермия, при которой температура тела была от 36,2 до 35,9°C; 4) наличие генерализованной внутриутробной TORCH-инфекции, подтвержденной методом полимеразной цепной реакции на 1–3-е сут от начала интенсивной терапии.

Структура заболеваемости была представлена врожденной высокой ($n = 9$) и низкой ($n = 12$) кишечной непроходимостью. Всем детям выполнена хирургическая коррекция порока на первые и вторые сутки после установления диагноза. Дети были разделены на 2 группы: группа 1 ($n = 10$) — новорожденные с гнойно-воспалительными осложнениями после проведения оперативного вмешательства (несостоятельность анастомоза — 2, перитонит с илеусом — 3, сепсис и пневмония — 5); группа 2 ($n = 11$) — дети, не имевшие осложнений после оперативного вмешательства. Референтную группу составили здоровые новорожденные ($n = 20$) после нормальных физиологических родов.

У всех детей при рождении определяли в плазме крови уровень кателицидина. Пациентам в группах 1 и 2 концентрацию LL-37 определяли на 1, 3, 7 и 14-е сут после оперативного вмешательства. Определение кателицидина в плазме проводили методом иммуноферментного анализа на автоматическом анализаторе с использованием стандартного набора реактивов фирмы «BCM Diagnostics».

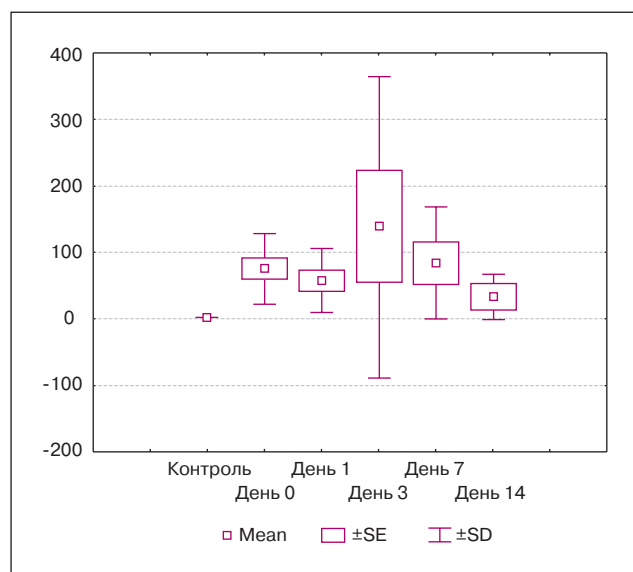
Всем детям выполнена хирургическая коррекция порока ЖКТ в 1–2-е сут после установления диагноза. Пациентам обеих групп на всех этапах оказания медицинской помощи проводилась комплексная интенсивная терапия с соблюдением общепринятых принципов лечения в неонатологии, детской хирургии и анестезиологии-реаниматологии.

Анализ достоверности различий в группах проводился методами вариационной статистики в лицензионной компьютерной программе «Statistica 6.0». С целью выбора адекватного метода статистической обработки данных проведен анализ результатов исследования по критерию Шапиро–Уилка. Полученный результат ($p = 0,36$) говорит о необходимости применения методов непараметрической статистики. Для анализа статистической достоверности между группами применялся критерий Вилкоксона. Критический уровень значимости (p) при проверке статистических гипотез в данном исследовании принимали равным 0,05. С целью описания полученных данных определяли медиану (Me), межквартильный размах 25–75%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Уровень кателицидина в группе детей с осложнениями составлял при поступлении 53,95 (36,3–138,5) нг/мл, через одни сут после оперативного вмешательства —

Рис. 1. Динамика показателей кателицидина (LL-37) у новорожденных с развитием гнойно-септических осложнений

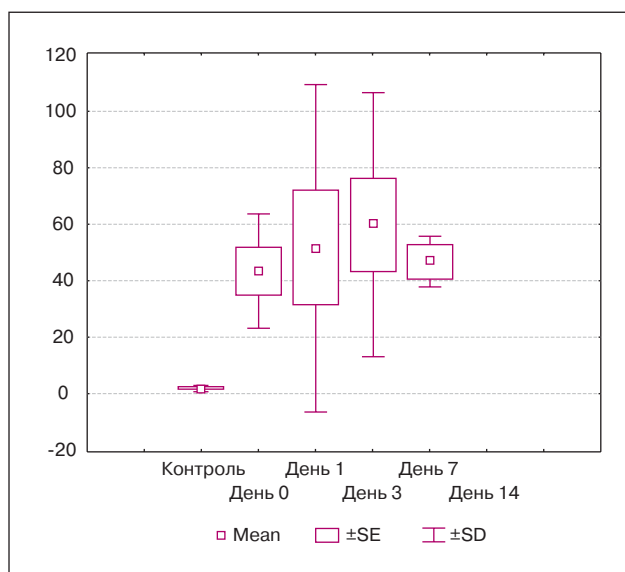


58,0 (16,0–104,2), на 3-й день — 55,4 (43,4–72,4), на 7-й день — 51,35 (32,95–109,4), на 14-й день — 16,1 (10,8–72,8) нг/мл (рис. 1).

У пациентов без осложнений этот же показатель при поступлении составлял 39,7 (31,6–62,1) нг/мл. Через одни сут после оперативного вмешательства — 32,4 (16,95–64,3), на 3-й день — 47,2 (35,1–74,6), на 7-й день — 46,7 (40,4–53,0), на 14-й день — 37,2 (37,2–37,2) нг/мл (рис. 2).

При сравнении показателей кателицидина в исследуемых группах новорожденных детей по тесту Вилкоксона статистически значимое различие ($p < 0,05$) было выявлено лишь на 1-е сут после проведения оперативного лечения. При исследовании различий уровня LL-37 в сыворотке крови у детей референтной группы по сравнению с новорожденными 1-й и 2-й групп во все дни были обнаружены статистически достоверные различия ($p < 0,01$).

Рис. 2. Динамика показателей кателицидина (LL-37) у новорожденных без гнойно-септических осложнений



В проведенном нами исследовании было установлено, что изменение уровня LL-37 в сыворотке крови у новорожденных с врожденной хирургической патологией ЖКТ является чувствительным маркером в прогнозировании развития послеоперационных осложнений. Концентрация кателицидина у новорожденных может служить предиктором для изменения лечебной тактики ведения пациентов в данной нозологической группе.

Таким образом, для оценки состояния новорожденных с пороками развития ЖКТ после хирургического вмешательства необходимо проводить исследование уровня кателицидина (LL-37), являющегося антимикробным белком, который выступает не только в качестве эндогенного антибиотика, но и играет важную роль в развитии процессов воспаления.

Исследование проводилось в рамках гранта Президента Российской Федерации МД-838.2010.7

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ахмадеева Э.Н., Фатыхова А.И. Инфузионная терапия и парентеральное питание в неонатологии. Пособие для врачей. Уфа: Издательство «VerteX». 2005. С. 1–34.
- Andres A.M., Miguel M., De la Torre C. et al. Chronic idiopathic intestinal pseudoobstruction and Berdon syndrome: still a diagnostic and therapeutic challenge for the pediatric surgeon. *Cir. Pediatr.* 2010; 23 (4): 215–221.
- Пулин А.М. Шок у новорожденных детей. Учебное пособие. СПбГПМА. 2005. С. 21–33.
- Watanabe T., Nakano M., Yamazawa K. et al. Neonatal intestinal volvulus and preduodenal portal vein associated with situs ambiguus. Report of a case. *Surg. Today.* 2011; 41 (5): 726–729.
- Sorensen O.E., Follin P., Johnsen A.H. et al. Human cathelicidin, hCAP-18, is processed to the antimicrobial peptide LL-37 by extracellular cleavage with proteinase 3. *Blood.* 2001; 97 (12): 3951–3959.
- Evennett N., Alexander N., Petrov M. et al. A systematic review of serologic tests in the diagnosis of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg.* 2009; 44 (11): 2192–2201.

- Zasloff M. Antimicrobial peptides of multicellular organisms. *Nature.* 2002; 415 (4): 389–395.
- Evennett N.J., Petrov M.S., Mittal A., Windsor J.A. Systematic review and pooled estimates for the diagnostic accuracy of serological markers for intestinal ischemia. *World J Surg.* 2009; 33 (7): 1374–1383.
- Mohiuddin M.W., Resig P.P., Sexton K.W., Douglas W.I. Two-day control of pulmonary blood flow with an adjustable systemic-pulmonary artery shunt. *ASAIO J.* 2011; 57 (3): 225–230.
- Zaiou M., Nizet V., Gallo R.L. Antimicrobial and Protease Inhibitory Functions of the Human Cathelicidin (hCAP18/LL-37) Prosequence. *The Journal of Investigative Dermatology.* 2003; 120 (5): 810–816.
- Berman L., Moss R.L. Necrotizing enterocolitis: An update. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2011; 20: 1164–1168.
- Li X., Morokuma S., Fukushima K. et al. Prognosis and long-term neurodevelopmental outcome in conservatively treated twin-to-twin transfusion syndrome. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2011; 22: 11–32.