

APJ 0266.

SİGİRR GENLƏRİNİN BƏTNDAXİLİ İNFEKSİYASI OLAN YENİDOĞULANLARDA NEKROTİK ENTEROKOLİTİN FORMALAŞMASINDA ROLU.

Məmmədova N.M.¹, Əliyeva A.M.², Adilova A.İ.¹,
İbrahim N.İ.¹

1. Azərbaycan Tibb Universiteti, II Uşaq
xəstəlikləri kafedrası.

2. K.Y.Fərəcova adına Elmi-Tədqiqat Pediatriya
İnstitutu. Bakı, Azərbaycan

Xülasə:

Nekrotik enterokolit neonatologiyanın aktual problemlərindən olub, ilk növbədə vaxtından əvvəl doğulmuş körpələrə, xüsusən də hamiləliyin 32 həftəsinə qədər doğulanlara təsir edir. Bu tədqiqatın məqsədi genetik amillərin həm nekrotik enterokolit, həm də bətdaxili infeksiyanın inkişafındakı rolunu və bu iki vəziyyət arasındakı mümkün əlaqələri öyrənməkdən ibarət olmuşdur.

Bu tədqiqata ümumilikdə 52 uşaq, onlardan 42 NEK-li xəstə və 10 şərti sağlam uşaq daxil edilmişdir. NEK ilə müayinə olunan körpələr: bətdaxili infeksiyası olan 19 yeni doğulan (1-ci alt qrup) və bətdaxili infeksiyası olmayan 23 yenidoğulan (2-ci alt qrup) olmaqla 2 qrupa bölünmüşdür.

SİGİRR gen metilyasiyaları DNT izolyasiyası və standart PCR reaksiyaları ilə müəyyən edilmişdir. Aşkar olunmuşdur ki, C58 gen lokusundakı dəyişikliklər bətdaxili infeksiyası olan NEK-li körpələr ilə bu patologiyaları olmayan körpələri fərqləndirmək üçün potensial proqnozlaşdırıcı markerdir. Genetik skrining NEK-in inkişafına daha yüksək riskli körpələri müəyyən etməyə, məqsədyönlü müdaxilələrə və fərdi qayğı tədbirlərini seçməyə kömək edə bilər.

Açar sözlər: nekrotik enterokolit; bətdaxili infeksiya; vaxtından əvvəl doğulmuş, SİGİRR geni

Giriş: Müasir səhiyyədə neonatal dövrdə rast gəlinən bəzi vəziyyətlərin gec anlaşılması, çətin müalicə üsulları səbəbindən tibb işçilərinə gərginlik yaşatmağa davam edir. Bətdaxili infeksiyası olan, vaxtından əvvəl doğulan körpələrdə ağır gedişli, yüksək ölüm verən, həyat keyfiyyətinə təsir edən nekrotik enterokolit (NEK) belə patologiyalardandır [1-3]. Tibb elmi inkişaf etdikcə bununla əlaqəli anlayışlarımız da inkişaf edir [3,4].

Nekrotik enterokolit, neonatologiyanın aktual problemi olub, ilk növbədə vaxtından əvvəl doğulmuş körpələrə, xüsusən də hamiləliyin 32 həftəsinə qədər doğulanlara təsir edir [5]. Bağırsaqda iltihab və toxuma ölümü ilə xarakterizə olunan NEK dünya miqyasında neonatal reanimasiya şöbələrində əhəmiyyətli bir problemdir. Tibbi xidmətdə nailiyyətlərə baxmayaraq, onun etiopatogenezi müəkkəb olaraq qalır və neonatoloqlar davamlı olaraq effektiv profilaktik və müalicə strategiyalarını müəyyən etməyə səy göstərirlər.

Bətdaxili infeksiya NEK-in inkişafında potensial risk amili kimi qəbul olunur [6]. Bu vəziyyət fetal membranların iltihabı ilə xarakterizə olunur, ananın genital traktından qalxan yolla bakterial, viral və ya göbələk patogenləri prosesə təkən verir. Ana ilə yoluxucu agentlər arasında müəkkəb immun reaksiyalar inkişaf edən dölə təsir edərək, bir sıra fəsadlara səbəb ola bilər.

NEK-i olan vaxtından əvvəl doğulmuş körpələrdən əldə edilən bağırsaq nümunələri üzərində aparılan tədqiqatlar vasitəçilik edən genlərin-TLR siqnal yolunu müsbət requlyasiya edən TLR4, MYD88 və sitokinlərin NEK zamanı artması, TLR siqnal yolunun mənfi requlyatorları olan

single immunoglobulin interleukin -1 related reseptor (SİGİRR) və A20 NEK zamanı azalması müşahidə olunur [7-10]. Vaxtından əvvəl doğulanların bağırsağında TLR 4-ün yüksək səviyyəsi və postnatal bağırsaqda aktivləşməsi işemiyaya, baryerin pozulmasına, NEK-ə gətirib çıxarır [11].

Göstərilən mexanizmlər vaxtından qabaq doğulanlarda NEK-in inkişafında yüksək həssaslığın yaranmasını izah etmiş olur, belə ki, məhz həmin qrupdan olan uşaqlar arasında TLR 4-ün səviyyəsi həmişə yüksək olur. İnsan embrionunun böyrək və bağırsaq epitelial hüceyrələrində aparılan müayinələrdə məlum olmuşdur ki, SİGİRR NEK-in inkişafında iştirak edən qram-mənfi bakteriyaların LPS-i tərəfindən törədilən iltihabı inqibə edir [12].

Sampat V. və b. (2015) təqdim etdiyi məlumat əsasən çox az çəkili uşaqlarda TLR-nin genetik variantları NEK-ə həssaslığı dəyişə bilər, həmçinin genetik müxtəliflik NEK-in patogenezinə mühüm rol oynayır. TLR requlyasiyasında olan anadangəlmə qüsurlar vaxtından qabaq doğulanlarda NEK-ə həssaslığı artırır. Müəyyən olunmuşdur ki, NEK inkişaf edən vaxtından qabaq doğulanlarda identifikasiya olunan SİGİRR-in genetik variantlarının öz funksiyasının itirilməsi nəticəsində LPS-ə yönəlmiş iltihab reaksiyası güclənir.

SİGİRR bağırsaqlarda TLR4-ün hədsiz aktivləşməsinin və iltihabın qarşısını alaraq "əyləc" rolunu oynayır.

Tədqiqatın məqsədi genetik amillərin həm nekrotik enterokolit, həm də bətdaxili infeksiyanın inkişafındakı rolunu və bu iki vəziyyət arasındakı mümkün əlaqələri öyrənməkdən ibarət olmuşdur.

Material və metodlar:

Bu tədqiqata ümumilikdə 52 uşaq, onlardan 42 NEK-li xəstə və 10 şərti sağlam uşaq daxil edilmişdir. Xəstə yenidoğulanlar ETPİ-

nun "Anesteziologiya Reanimasiya İntensiv terapiya" və "Vaxtından əvvəl doğulanların patologiyası" şöbələrində müalicə alan, şərti sağlam yenidoğulanlar 7 sayılı doğum evindən seçilmişdir. SİGİRR geninin tədqiqi Ankara şəhərindəki İNTERGEN laboratoriyasında həyata keçirilmişdir. NEK ilə müayinə olunan körpələr : bətdaxili infeksiyası olan 19 yeni doğulmuş (1-ci alt qrup) və bətdaxili infeksiyası olmayan 23 yenidoğulan (2-ci alt qrup) olmaqla 2 qrupa bölünmüşdür. 10 şərti sağlam körpə kontrol qrupu təşkil etmişdir.

Körpələrin hestasiya yaşı xəstə qrupda 32,4 +2,77, kontrol qrupda 32,7 + 3,33, doğum kütləsi uyğun olaraq 1673,1 +546,96 q və 1782,5 + 610,22 q olmuşdur. Körpələrdən 1-üçəm (2%), 11 (22%) ekiz hamiləlikdən, 21 uşaq (42%) ilkin hamiləlikdən, 29-u (58%) təkrar hamiləlikdən doğulmuşdur. 7 (14%) hamiləlik uzunmüddətli sonsuzluqdan sonra ekstrakorporal mayalanma nəticəsində baş vermişdir. Təbii doğuşdan 24 körpə (48%), operativ doğuşdan 26 körpə (52%) doğulmuşdur. Körpələrinin analarının yaşı müvafiq olaraq 29,6 + 7,43 və 30,0 +7,07 olmuşdur. Körpələrin 42%-i (21 nəfər) oğlan, 58%-i (29 nəfər) qızlardan ibarət olmuşdur.

Erkən neonatal dövrdə 11 körpənin (22%) respirator dəstəyə (SVA, CPAP) ehtiyacı olub. Xəstə qrupdakı uşaqlardan 5-i (9,2%) asfiksiya ilə doğulmuşdur, 12 uşaqda (30 %) sepsis inkişaf etmişdir.

NEK-in I mərhələsi 24 (60%), II mərhələsi 9 (22,5%), III- 7 uşaqda (17,5%) müəyyən olunmuşdur.

NEK-in I mərhələdə olan körpələrdən 19 uşağa (79%) ana südü orta hesabla 5-ci gün, II mərhələdə olan körpələrdən 7-sinə (77,6 %) 8-9-cu gün, III mərhələdə olan 4 uşağa (57 %) 9-cu gündən sonra verilməyə başlanmışdır. Məlum olmuşdur ki, NEK ilə xəstələnən 29 körpə (58%) ilk

günlərdən süni qida ilə qidalandırılıbmış. Həyatının ilk günündən ancaq ana südü alan körpələrin sayı 2 (5%) olmuşdur.

NEK ilə xəstə uşaqlardan 7-si (17,5%) cərrahi əməliyyata məruz qalmış, 7 uşaq ölmüş (17,5%), bunlardan 2 uşaq (28,5%) cərrahi əməliyyat keçirmişdir.

Nəzarət altında olan körpələrin vaxtından əvvəl doğulan olmalarını nəzərə alaraq götürülən qan nümunələri 0,5 ml təşkil etmişdir.

DNT izolyasiyası: QiAamp DNA Blood (Qiagen Inc.) mini dəstindən istifadə edərək, istehsalçı tərəfindən tövsiyə olunan protokola uyğun olaraq hər tam qan nümunəsindən 200 µl istifadə olunaraq DNT izolyasiyası aparıldı. Ayrılmış DNT nümunələri bisülfite çevrilmə mərhələsinə qədər -200C-də saxlanıldı. Təmizlənmiş və standartlaşdırılmış PCR reaksiyaları nexteraXT prep dəsti (Illumina Inc.) ilə NGS mərhələsi üçün hazırlıq görüldü. NGS Miseq sistemində (Illumina Inc.) MiSeq Reagent Kit v2 2x150 (MS-102-2002, Illumina Inc.) kartriclərindən istifadə olunaraq aparılmışdır.

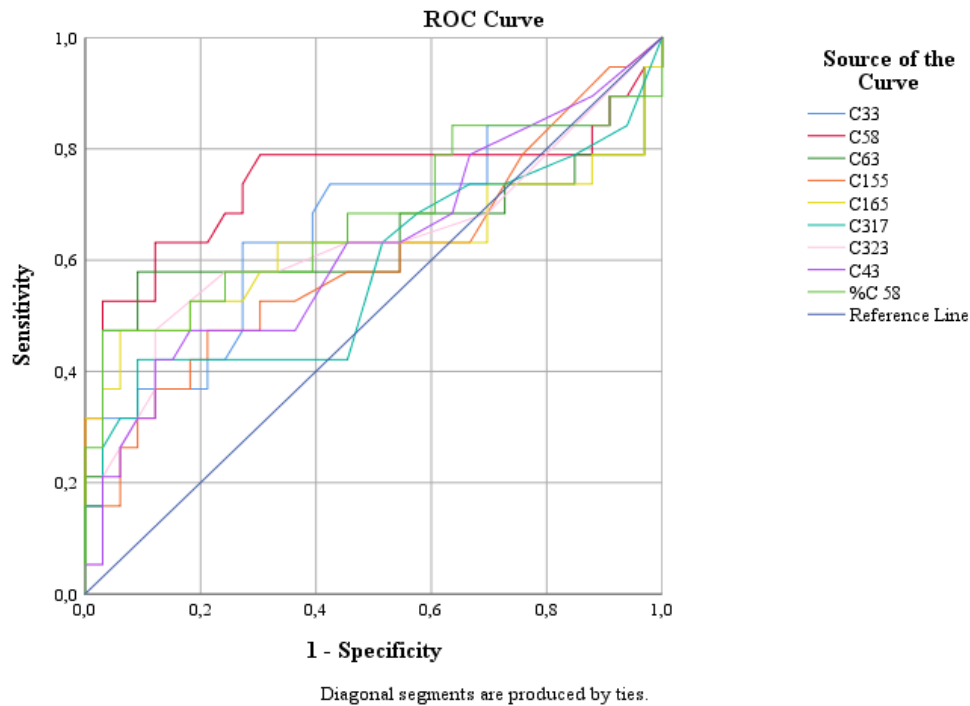
Tədqiqatın nəticələri və onların müzakirəsi: Cədvəl 1-də SIGIRR geninin NEK-li, bətdaxili infeksiyalı körpələrdəki dəyişiklikləri əhatə edən məlumatları təqdim olunub. Məlumatlara müxtəlif test nəticələri və müvafiq dəyişənlər, eləcə də əyri altındakı sahə dəyərləri (AUC), standart səhvlər və etibar intervalı p daxildir.

Cədvəldə göstərildiyi kimi, bir çox test nəticələrində 0,05-dən çox p dəyərləri var ki, bu da onların AUC dəyərlərinin statistik cəhətdən əhəmiyyətli olmadığını göstərir. Bununla bərabər, C58 nisbətən yüksək AUC dəyərlərinə malikdir ki, (1-ə yaxın), bu da bətdaxili infeksiyalı və kontrol qrupdakı körpələri ayırmaq üçün yaxşı diskriminativ qabiliyyətin olduğunu göstərir.

Genomik tədqiqatlardakı son inkişaf NEK-in patogenezinə genetik dəyişikliklərin potensial roluna aydınlıq gətirdi. Bu müzakirə körpələrdə NEK ilə əlaqəli genetik dəyişikliklərin müasir anlayışını araşdırır.

C58 gen lokusunun AUC dəyəri 0,742-dir və bu da yaxşı diskriminativ qabiliyyəti göstərir. Bu onu göstərir ki, C58 gen lokusu bətdaxili infeksiyalı NEK-li körpələri bu xəstəlikləri olmayan körpələrdən fərqləndirməyə imkan verən proqnostik marker kimi potensiala malikdir. 0,086 kiçik bir standart səhv, C58 üçün AUC qiymətləndirməsinin düzgünlüyünü bir daha təsdiqləyir. Bundan əlavə, əhəmiyyətli asimptotik dəyər ($p=0,004$) nəticələrin dürüstlüyünün yüksəldilməsi üçün müşahidə olunan diskriminasiyanın təsadüf nəticəsində mümkün olmadığını göstərir.

C58 üçün perspektivli AUC dəyəri o deməkdir ki, bu gen lokusu bətdaxili infeksiya və NEK-in inkişaf riski olan körpələri müəyyən etmək üçün qiymətli biomarker ola bilər. Bu şərtlərin erkən aşkarlanması vaxtında müdaxilə və müalicə üçün çox vacibdir, çünki həm bətdaxili infeksiya, həm də NEK müalicə olunmazsa ciddi sağlamlıq fəsadlarına səbəb ola bilər.



Cədvəl 1. NEK-li körpələrdə SİĞİRR gen profilinin ROC əyrisi.

Area Under the Curve					
Test Result Variable(s)	Area	Std. Error	Asymptotic Sig.	Asymptotic 95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
C33	0,656	0,086	0,064	0,487	0,824
C58	0,742	0,086	0,004	0,573	0,912
C63	0,636	0,097	0,104	0,447	0,826
C155	0,600	0,087	0,231	0,429	0,772
C165	0,624	0,096	0,138	0,436	0,813
C317	0,580	0,091	0,342	0,401	0,759
C323	0,630	0,090	0,121	0,455	0,805
C43	0,622	0,086	0,146	0,454	0,790
%C 58	0,676	0,087	0,036	0,505	0,848

C58-i müayinə protokollarına daxil etməklə səhiyyə işçiləri diaqnozların dəqiqliyini artırma və təsirə məruz qalan körpələr üçün müvafiq müalicə strategiyalarını inkişaf etdirə bilər. Bundan əlavə, növbəti araşdırma NEK olan körpələrdə C58 və NEK-ə həssaslıq arasındakı əlaqənin arxasında duran bioloji mexanizmləri daha dərinləndirilməyə imkan verəcək.

Çoxsaylı tədqiqatlar körpələrdə NEK-ə meyilliliyi aşkar etməyə kömək edə biləcək xüsusi genetik variantlar müəyyən etmişdir.

İmmun cavabda, bağırsağın baryer funksiyasında və iltihabda iştirak edən genlərdə modifikasiyalar aşkar edilmiş və geniş şəkildə araşdırılmışdır. Məsələn, Toll-bənzər reseptorları (TLR) və interleykinləri kodlayan genlərdəki dəyişikliklər NEK riskinin artması ilə əlaqələndirilir. Bu genetik dəyişikliklər normal immunitet reaksiyasını, baryer tamlığını poza bilər və bağırsaqda anormal iltihablı reaksiyalara səbəb ola bilər. Genetik variantlardan başqa, epigenetik dəyişikliklər də NEK-in

inkişafına potensial töhfələr kimi ortaya çıxdı. DNT metilasiyası və histon modifikasiyaları kimi epigenetik dəyişikliklər DNT ardıcılığını dəyişdirmədən gen ekspressiyasına təsir göstərə bilər.

Bağırsağın inkişafı və immunitetdə iştirak edən əsas genlərin epigenetik mənzərəsindəki pozulmalar NEK-ə həssaslığa təsir göstərə bilər. Hazırkı tədqiqat Azərbaycan populyasiyasına ilk dəfə aparılmışdır. Bundan əlavə, C58-i klinik istifadə, perspektiv tədqiqatlar və uzun müddətli təqiblər üçün etibarlı biomarker kimi qurmaq zəruridir. Uzunmüddətli qiymətləndirmələr C58 və NEK arasındakı əlaqənin sabit olub-olmadığını müəyyən edə bilər, zaman keçdikcə risk altında olan körpələrin müəyyən edilməsində onun proqnozlaşdırıcı dəyərini artırır.

Nəticə.

Bətdaxili infeksiya və nekrotik enterokoliti olan körpələrdə C58 gen lokusu risk altında olan körpələri müəyyən etmək üçün qiymətli biomarker kimi qəbul edilə bilər. Bununla belə, əlavə tədqiqat və təsdiqləmə işləri C58-in klinik faydası, xəstə qulluğunun gücləndirilməsi, xəstəliyin idarəetmə və qarşısının alınması strategiyalarının yaxşılaşdırılması üçün əhəmiyyətli vədlər verə bilər. Genetik skrining NEK-in inkişaf riski yüksək olan körpələri müəyyən etməyə, məqsədyönlü müdaxilələrə və fərdi qayğıya kömək edə bilər. Bundan əlavə, NEK-in genetik faktorlarına dair fikirlər, gen əsaslı müalicələr və fərdi müalicələr də daxil olmaqla yeni terapevtik yanaşmaların inkişafına səbəb ola bilər.

Ədəbiyyat

1. Alganabi M, Lee C, Bindi E, Li B, Pierro A. Recent advances in understanding

- necrotizing enterocolitis. *F1000Res.* 2019, 8.
2. Duchon J, Barbian ME, Denning PW. Necrotizing Enterocolitis. *Clinics in Perinatology.* 2021, 48(2):229-50.
3. Meister AL, Doheny KK, Travagli RA. Necrotizing enterocolitis: It's not all in the gut. *Exp Biol Med (Maywood).* 2020, 245(2):85-95.
4. Bisquera JA, Cooper TR, Berseth CL. Impact of necrotizing enterocolitis on length of stay and hospital charges in very low birth weight infants. *Pediatrics.* 2002, 109:423–8.
5. Neu J, Walker WA. Necrotizing enterocolitis. *N Engl J Med.* 2011, 364:255–64.
6. Schnabl K.L., Aerde J.E.V., Thomson A.B., Clandinin M.T. Necrotizing enterocolitis: A multifactorial disease with no cure. *World J. Gastroenterol.* 2008, 14:2142–2161. doi: 10.3748/wjg.14.2142.
7. Hackam D.J., Sodhi C.P. Toll-like receptor-mediated intestinal inflammatory imbalance in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Cell. Mol. Gastroenterol. Hepatol.* 2018, 6:229–238.e1. doi: 10.1016/j.jcmgh.2018.04.001.
8. Sampath V., Menden H., Helbling D., Li K., Gastonguay A., Ramchandran R., Dimmock D.P. SIGIRR genetic variants in premature infants with necrotizing enterocolitis. *Pediatrics.* 2015, 135:e1530–e1534.
9. Neal M.D., Sodhi C.P., Dyer M., Craig B.T., Good M. et al. A critical role for TLR4 induction of autophagy in the regulation of enterocyte migration and the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *J Immunol.* 2013, 190: 3541-3551

10. Wang J., Ouyang Y., Guner Y., Ford H.R., Grishin A.V. Ubiquity-editing enzyme A20 promotes tolerance to lipopolysaccharide in enterocytes. *J Immunol.* 2009, 183: 1384-1392
11. Hackam DJ, Sodhi CP. Toll-Like Receptor–Mediated Intestinal Inflammatory Imbalance in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology.* 2018;6(2):229-38.e1.
12. Wu W., Wang Y., Zou J., Long F. Bifidobacterium adolescentis protects against necrotizing enterocolitis and upregulates TOLLIP and SIGIRR in premature neonatal rats// *BMC Pediatr*/2017/-Jan/5;17(1):1.

SUMMARY

The role of SIGIRR genes in the development of necrotizing enterocolitis in newborns with intrauterine infection

Mammadova N.M. Aliyeva A.M., Adilova A.İ., İbrahim N.İ.

Azerbaijan Medical University, Department of Children's Diseases 2, Scientific Research Institute of Pediatrics named after Farajova

Necrotizing Enterocolitis is one of the actual problems of neonatology, that primarily affects premature infants, particularly those born before 32 weeks of gestation. The aim of this study is to investigate the role of genetic factors in the development of both necrotizing enterocolitis and intrauterine infection, exploring the possible links between these two conditions. A total of 52 with NEC and 10 healthy, were included in this study. All the examined children with NEC were divided into 2 groups: 19

newborns with intrauterine infection (1st subgroup), 33 infants without intrauterine infection (2nd subgroup). It was determined SIGIRR gene mutations with DNA isolation and standardized PCR reactions. It was found that C58 gene locus changes is a potential predictive marker for differentiating between infants with intrauterine infection and NEC and those without these conditions. Genetic screening may help identify infants at higher risk of developing NEC, allowing for targeted interventions and personalized care.

Keywords: Necrotizing Enterocolitis; Intrauterine infection; Preterm Birth; SIGIRR mutations

РЕЗЮМЕ

Роль генов SIGIRR в развитии некротизирующего энтероколита у новорожденных с внутриутробным инфицированием.

Мамедова Н.М. Алиева А.М., Адилова А.И., Ибрагим Н.И.

Азербайджанский Мед. Университет, Кафедра Детские болезни 2, Научно-исследовательский институт педиатрии имени Фараджовой,

Некротический энтероколит — одна из актуальных проблем в неонатологии, поражающая преимущественно недоношенных детей, особенно родившихся до 32 недель гестации. Целью данного исследования является изучение роли генетических факторов в развитии как некротизирующего энтероколита, так и внутриутробной инфекции, изучение возможных связей между этими двумя состояниями. В это исследование были включены в общей сложности 52 человека с НЭК и 10

здоровых. Все обследованные дети с НЭК были разделены на 2 группы: 19 новорожденных с внутриутробным инфицированием (1-я подгруппа), 33 ребенка без внутриутробного инфицирования (2-я подгруппа). Были определены мутации гена SIGIRR с помощью выделения ДНК и стандартизированных реакций ПЦР. Было обнаружено, что изменения локуса гена C58 являются потенциальным прогностическим маркером для дифференциации детей с внутриутробной инфекцией и НЭК от детей без этих состояний. Генетический скрининг может помочь выявить младенцев с более высоким риском развития НЭК, что позволит проводить целенаправленные вмешательства и персонализированный уход.

Ключевые слова: некротический энтероколит; внутриутробное инфицирование; преждевременные роды; мутации SIGIRR