

## ƏDƏBİYYAT İCMALLARI

### NEKROTİK ENTEROKOLİTİN İMMUNOGENETİK ASPEKTLƏRİ

QULİYEV N. C., CƏFƏROVA T. S.

*K. Y. Fərəcova adına Elmi-Tədqiqat Pediatriya İnstitutu (Bakı, Azərbaycan)*

Nekrotik enterokolit (NEK) yenidoğulanların, xüsusən vaxtından əvvəl doğulan uşaqların ən ağır xəstəliklərindən biridir. Son illərdə yenidoğulanların reanimasiya və intensiv terapiya şöbələrində NEK-in rastgəlmə tezliyi xeyli yüksəlmişdir. Belə ki, reanimasiya və intensiv terapiya şöbələrində müalicə alan yenidoğulanların 1-5%-ni NEK-li xəstələr təşkil edir ki, onların da 65-95%-i vaxtından əvvəl doğulanlardır [1,2,3]. Xəstəliyin başlanması əsasən neonatal dövrün 3-10-cu günlərinə təsadüf edir. Lakin ədəbiyyatda doğuşdan sonrakı ilk 24 saatda və 3 ayında da NEK inkişaf edən xəstələr haqqında məlumatlar var [2,3]. NEK qısa müddətdə sepsis, bağırsağ perforasiyası, yayılmış damardaxili laxtalanma sindromu, poliorqan çatmazlığı kimi bir çox ciddi ağırlaşmalara səbəb olur. Bu xəstələrin 20-40%-i isə cərrahi müdaxilə tələb edir. İntestinal bitişmələr, intraabdominal abses və geniş nekrotik hissənin rezeksiya olunması nəticəsində qısa bağırsağ sindromunun inkişafı isə cərrahi əməliyyatlardan sonra meydana çıxan ağırlaşmalardır. Bu ağırlaşmalar fonunda xəstələrin uzun müddətli müalicəyə ehtiyacı olur. Onların çoxunda sonrakı yaşlarda fiziki və psixomotor inkişafdan geri qalma qeyd olunur [2,3,4,5,6]. NEK-li xəstələrdə ölüm göstəricisi 10-60% arasında dəyişir. Cərrahi müdaxilədən sonrakı ölüm göstəriciləri isə daha yüksək olub 60-80% təşkil edir [5,6]. Beləliklə,

NEK yenidoğulanlarda rastgəlmə tezliyi yüksək və uzun müddətli gedişə malik olan xəstəliklərdəndir. Bunun əsas səbəbi isə NEK haqqında çoxsaylı tədqiqatların aparılmasına baxmayaraq, xəstəliyin patogenetik mexanizminin hələ də tam aydın olmamasıdır. Müasir dövr üçün isə NEK-in immunogenetik aspektlər səviyyəsində öyrənilməsinin çox aktual olmasına baxmayaraq, bu sahədə aparılan elmi-tədqiqat işləri xeyli azdır, nəticələri isə bir-birindən fərqlidir.

Məlumdur ki, yenidoğulanların bağırsağ bariyeri həm fizioloji, həm də immunoloji olaraq tam formalaşmamışdır. Bağırsağ bariyerinin immunoloji funksiyasının yerinə yetrilməsində immun sistem komponentləri olan T və B limfositləri və immunoglobulinlər (İg) mühüm əhəmiyyət kəsb edir. Yenidoğulanlarda intestinal T və B limfositlərinin miqdarı az olmaqla bərabər, həm də funksional cəhətdən yetkin deyil. Bundan əlavə, vaxtından əvvəl doğulan uşaqların bağırsaqlarında İgA, İgM, İgG səviyyələri aşağıdır, sekretor İgA isə demək olar ki, yoxdur. Son illər aparılan elmi-tədqiqat işlərində ana südü ilə qidalanmanın NEK əmələ gəlməsinin qarşısını alması öz təsdiqini tapmışdır. Ana südünün tərkibində olan limfositlər, makrofaqlar, lizosim, sekretor İgA NEK-in əmələ gəlməsinin qarşısını alan amillərdəndir [1,25].

Klinik təcrübələrdə NEK-in patogenezi tədqiqatlarında NEK-in patogenetik mediatorlarının

rolu da öz təsdiqini tapmışdır. Belə ki, klinik olaraq NEK diaqnozu qoyulmuş yenidoğulanlarda həm qanda, həm də periton mayesində TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor – şiş nekroz faktoru) və İL-6 (İnterleykin-6) –nın çox yüksək səviyyələri qeyd olunmuşdur. NEK-li yenidoğulanların bağırsağ toxumalarından əldə edilən nümunələrdə isə TNF- $\alpha$  daşıyıcısı olan RNT səviyyəsində yüksəlmə, cərrahi əməliyyatlardan sonrakı mərhələdə isə onun səviyyəsində kəskin azalma qeyd olunmuşdur [7]. Bundan əlavə, aparılan elmi-tədqiqat işlərinin nəticələrinə görə NEK diaqnozu qoyulmuş yenidoğulanlarda İL-1, İL-3, İL-6, İL-8, İL-11 səviyyələrində nəzarət qruplarına görə xeyli yüksəlmə müəyyən olunmuşdur. Bu interleykinlərin ən yüksək səviyyələri isə NEK və sepsis yanaşı gedən yenidoğulanlarda qeyd alınmışdır [7,9]. NEK-in ağır formalarında isə həm də nəcisdə İL-8-in səviyyəsinin artması qeyd olunmuşdur [7]. Aparılan tədqiqatların nəticələrinə görə müəyyən edilmişdir ki, vaxtında doğulanlarla müqayisədə vaxtından əvvəl doğulanlarda İL -10 və İL-11-in plazma səviyyələri aşağıdır. Qeyd edilənləri nəzərə alaraq, NEK-li yenidoğulanlarda müalicə kompleksinə rekombinat insan İL-10 və İL-11-in daxil edilməsi bağırsağ selikli qişasının zədələnmiş sahələrinin bərpasına və ölüm göstəricisinin xeyli azalmasına səbəb olmuşdur (8,9). Belə xəstələrin bağırsağ toxumalarından əldə olunmuş nümunələrdə isə İL-11-in məlumat RNT-sinin artması fonunda toxuma zədələnməsinin azalmasının yanaşı gedişi müəyyən olunmuşdur [7]. NEK-in patogenezdə mühüm rola malik olan mediatorlardan biridə PAF

(platelet activating factor)-dır (6). Biyokimyəvi tərkibcə fosfolipidlərə aid olan PAF fosfolipaza A2 vasitəsiylə makrofaqlardan, neytrofillərdən, bağırsağ epitelial hüceyrələrindən ifraz olunur. PAF güclü vazokonstruktiv funksiyaya malikdir. Eyni zamanda neytrofillərin, trombositlərin aqreqasiyasını gücləndirməklə bağırsağ toxumasında nekrotik sahələrin əmələ gəlməsinə səbəb olur [6,7]. PAF PAF-AH (PAF-asetilhidrolaza ) fermenti vasitəsiylə inaktiv formaya lyso-PAF-a çevrilir. Aparılan təcrübələrdə müəyyən olunmuşdur ki, ana südünün tərkibində PAF-AH var [25,26]. Məhz bu səbəbdən də ana südü ilə qidalandırılan yenidoğulanlarda NEK-in inkişafı suni qidalanmada olan uşaqlara nisbətən daha az təsadüf edilir. Klinik təcrübələrlə də təsdiq olunmuşdur ki, NEK-li xəstələrin qan plazmasında PAF-ın səviyyəsi nəzarət qrupları ilə müqayisədə xeyli yüksəkdir. Xəstəliyin ağırlığı artdıqca PAF-ın plazma səviyyələrində də yüksəlmə qeyd olunmuşdur. Həmçinin, vaxtından əvvəl doğulanların enteral qidalanmaya başlanması ilə PAF-ın plazma və nəcisdə miqdarında yüksəlmə qeyd olunmuşdur [7,26]. Aparılan elmi-tədqiqat işlərində PAF-AH-ın səviyyəsi isə vaxtında doğulan yenidoğulmuşlarla müqayisədə vaxtından əvvəl doğulanlarda çox aşağı qeyd olunmuşdur.

Son illərdə NEK-in patogenezinin aydınlaşdırılması baxımından molekulyar və hüceyrə səviyyəsində aparılan tədqiqatlar diqqətə layiqdir. Müəyyən edilmişdir ki, əsas proses TBRs (Toll-bənzər reseptorlar) və NF-kB (Nuklear faktor – kappa B) səviyyəsində gedir. TBRs-lar patogen əlaqəli reseptor qrupunun bir

nümayəndəsi olub, epitel hüceyrələrin səthində yerləşir və zədələnmiş toxumaların bərpa proseslərində mühüm rol oynayır. İnsan organizmində məlum olan TBRs-lardan TBR4 NEK-in inkişafında mühüm əhəmiyyət kəsb edir [10,11]. TBR-4 bakterial lipopolisaxaridlər və ya digər daxili immun komponentlər tərəfindən aktivləşdirilir [12,13]. Heyvan modellərində və hüceyrə kulturalarında TBR4-ün aktivləşməsi NF-kB yolu ilə iltihab ocağına istiqamətlənmiş enterositlərin miqrasiyasını inhibə edir və onların apaptozuna səbəb olur. TBR-4 signalının inhibisiyası isə, əksinə bağırsağ epitelində apaptozu ləngidərək NEK-in inkişafının qarşısını alır [10,11].

Dölün inkişafı dövründə normada TBR-4 səviyyəsi hamiləliyin sonuna qədər yüksəlir. Müəyyən edilmişdir ki, TBR-4-ün həddən artıq ekspresiyası embriogenezdə bağırsağ epitelinin proliferasiyası və diferensasiyasında mühüm rol oynayır [14]. Bətdaxili dövrdə TBR-4-ün belə davamlı artan ekspresiyası döl üçün NEK-in inkişafına səbəb olmur. Bunun səbəbi isə dölün steril olmasıdır. Hamiləliyin sonunda isə döldə TBR-4 ekspresiyası azalır və normal bağırsağ mikroflorasına qarşı TBR-4 signalı qeyri-aktiv olur. Bundan fərqli olaraq, vaxtıdan

əvvəl doğulanlarda TBR-4-ün ekspresiyası çox yüksək səviyyədə qalır,bağırsağ selikli qişası çox zaman patogen mikroflora ilə kolonizasiya olunduğundan TBR-4 signalının aktivliyi artır və zədələnmiş bağırsağ selikli qişası epitelinin bərpa qabiliyyəti azalır [10]. Nəticədə TBR-4-ə əlaqəli cavab reaksiyası bağırsağ bariyerinin zədələnməsinə, bakteriyanın translokasiyasına, bağırsağ divarının iltihabına və nəticə etibarlı ilə sistem iltihabi cavaba reaksiyasına səbəb olur [10]. Şəkil 1-də NEK-in patogenezindəki TBR-4 yolunun molekulyar mexanizmi izah olunur:

1 - TBR-4 NF-kB vasitəsi ilə iltihabi sitokinləri induksiya edir.

2 - İltihabi sitokinlər epitelial zədələnməni başladır.

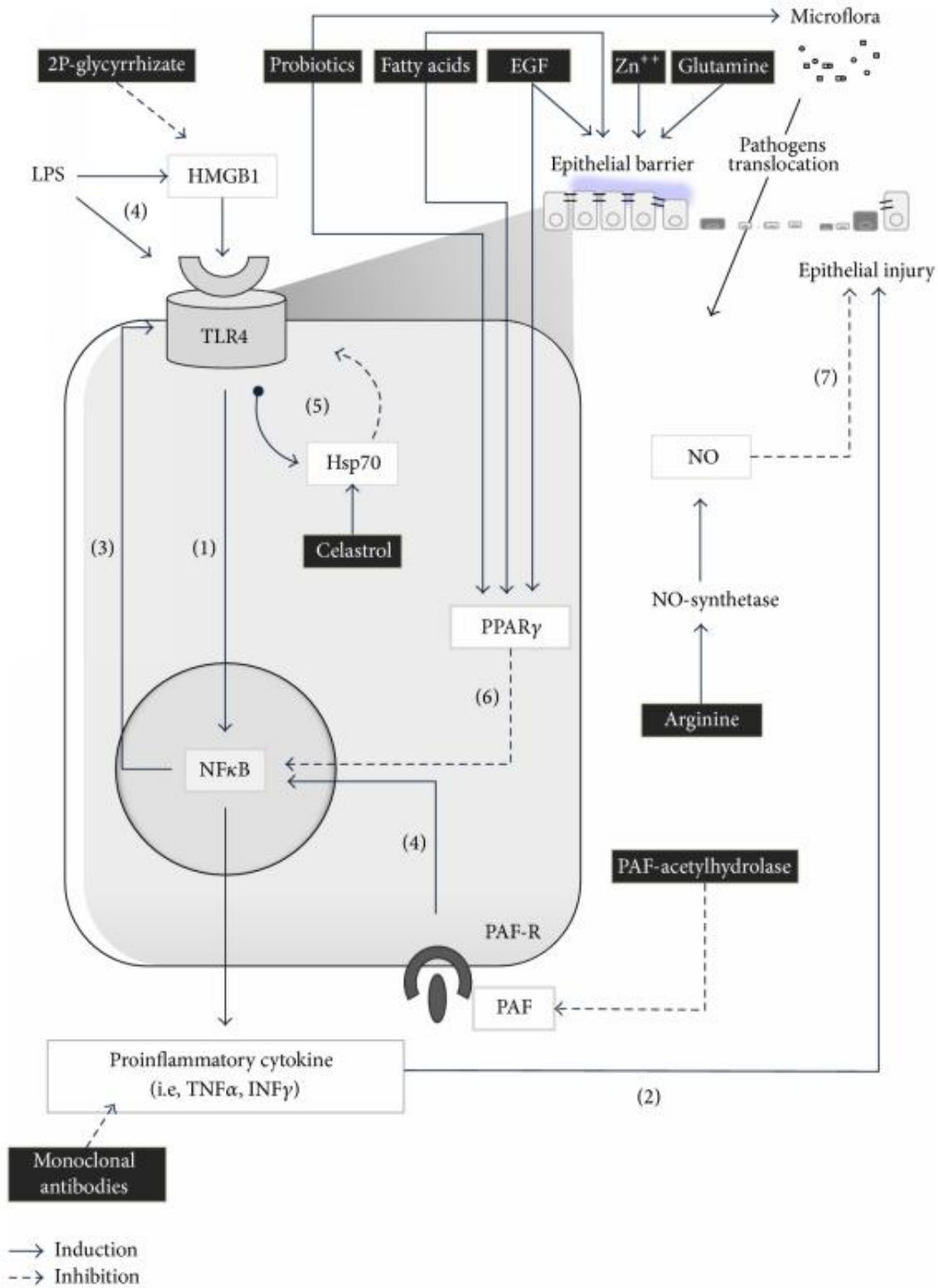
3- NF-kB signalı isə öz növbəsində TBR-4-ün ekspresiyasını artırır.

4- TBR-4 signalı birbaşa bakteriya hissələri (lipopolisaxarid), HMGB (yüksək hərəkətli hissəciklər) ilə , NF-kB yolu ilə və PAF vasitəsi ilə aktivasiya olunur.

5 - TLR 4 HSP70 (istilik şok proteini 70) ilə avtoqulyasiya olunur.

6 - PPAR, NF-kB yolunu blokada etməklə TBR-4 signalının inhibisiyası edir.

Şəkil 1.



TBR-4-ün aktivləşməsi TNF-α və İL- 1β kimi NF-kB proteinlərini aktivləşdirir ki, bunlar da iltihabi və immun cavabda önəmli rol oynayan genlərin ekspressiyasını təmin edir. Normada NF-kB dimerləri İkB (Inhibitor NF-Kb) zülalı ilə bağlı halda

inhibə olur [15]. Hüceyrənin stimulyasiyası nəticəsində İkB-nin 26s proteozomda fosforilasiya və ubikuitinasiyası ilə parçalanması baş verir [16,17]. NF-kB sərbəstləşir, aktiv gen transkripsiyasına səbəb olduğu nüvəyə keçir. NF-kB aktivləşməsi həm də İkB

promotor bölgəsini aktivləşdirir. Beləliklə, bu həssas autorequlyasiya əks-əlaqə sistemi ilə NF-kB aktivliyi vasitəsi ilə İkB sintezinə səbəb olur ki, bu da NF-kB cavabının həddən artıq olmasının qarşısını alır (18, 19). İn vivo və in vitro araşdırmalar göstərir ki, yetkin olmayan enterositlərdə İkB izoformlarının azalmış ekspressiyası ilə bağlı NF-kB-nin artmış aktivliyinə sahibdirlər [17]. Yetkin olmayan enterositlərdə yetkin enterositlərlə müqaisədə İkB səviyyəsində fərqlilik yetkin olmayan və yetkin olan bağırsağın iltihaba fərqli cavab verməsinin əsas səbəbidir [17,20,21]. Son tədqiqatların nəticələrinə görə NEK-in inkişafında əsas şübhəli səbəb məhz TBR4 yollarındakı gen defektləridir. Bu genlər daxili iltihab genləri və mənfi tənzimləyici genlər (SİGİRR, TOLLİP, A-20, İRAK-M) şəklində qruplara ayrılır. Bu sahədə aparılan tədqiqatda döl, uşaq və sağlam insanlardan rezeksiya olunmuş bağırsağ divarı enterositlərində epitelial genlərin ekspressiyası və daxili immun cavabın selektiv protein səviyyələri araşdırılmışdır [23]. Bu məqsədlə Lazer mikrodiseksion usulu ilə 3 elektiv bağırsağ cərrahi əməliyyatı keçirən uşaq, 3 terapevtik abort olunan döl və 3 NEK-li xəstədən bağırsağ rezeksiyası alınmış, epitelial RNT izolə edilmiş və daxili immun cavab genləri qRT-PCR usulu ilə yoxlanılmışdır. Alınan nəticələr müqayisə olunmuş və müəyyən olunmuşdur ki, NFkB/MyD88 daxili iltihab genləri fetal və NEK-li bağırsaqda həddindən artıq, mənfi tənzimləyici genlər (SİGİRR, TOLLİP, A-20, İRAK-M) isə həddindən az ekspressiya olunur[23].

Müasir dövr üçün aparılan araşdırmalar NEK-in mümkün səbəbləri arasında yeni yanaşma mexanizmlərinin olmasını aşkar edir. Belə ki, çoxsaylı

yenidoğulanlar üzərində aparılan müşahidələr göstərir ki, əksər vaxtından əvvəl yenidoğulanlarda TBR-4-siqnalının aktivasiyası olsa belə, NEK inkişaf etmir. Müəyyən olunmuşdur ki, bu yenidoğulanlarda TBR-4 siqnalının aktivliyi NEK-in inkişafının qarşısını alacaq şəkildə əks-tənzimləyici genlər vasitəsi ilə azaldılır. NEK inkişaf edən yenidoğulanlarda isə bu genlərin andangəlmə defektləri müəyyən olunmuşdur. Əsas əks-tənzim geni sayılan SİGİRR genində daha geniş şəkildə aparılan genetik araşdırmalar NEK-li yenidoğulanlarda bu gendə STOP mutasiyası (p.Y168X) və nadir də olsa missens mutasiyası (p.S80Y) olduğunu göstərmişdir [24]. Beləliklə aparılan elmi- tədqiqat işlərinin nəticələrinə görə müəyyən edilmişdir ki, vaxtından əvvəl doğulanlarda NEK-in inkişafında daxili immun siqnalın tənzim mexanizmlərində iştirak edən genlərin anadan gəlmə defektli olmasının mühüm əhəmiyyəti var. Lakin digər əks-tənzim genləri olan TOLLİP, A-20, İRAK-M – in fəaliyyəti və onların NEK-in inkişafına səbəb ola biləcək gen mutasiyaları öyrənilməyib. Bundan əlavə bu sıraya daxil olan genlər, onlarda müştərək mutasiyalar haqqında ədəbiyyatda və aparılan elmi-tədqiqat işlərində məlumatlar yoxdur. Deməli bu tədqiqatlar fraqmentar xarakterli olmaqla NEK-in genetik aspektlərini tam aydınlaşdırmağa imkan vermir və bu istiqamətdə yeni axtarışların aktuallığını və vacibliyini bir daha sübut edir.

#### ƏDƏBİYYAT:

1. Stoll BJ, Kliegman RM. Digestive system disorders. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (Eds.). Nelson textbook of pediatrics. 17th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000.

2. Premji SS. Standardised feeding regimens :hope for reducing the risk of NEC.Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 2005;90:192-3
3. Martin JA, Kung HC, Mathews TJ, Hoyert DL, Strobino DM, Guyer B, Sutton SR. Annual summary of vital statistics: 2006. Pediatrics 2008.
4. S.C.Fitzgibbons, Y.Ching. Journal of pediatric Surgery. 2011
5. C. D. Downard, E. Renaud, S. D. St Peter et al., "Treatment of necrotizing enterocolitis: an American Pediatric Surgical Association Outcomes and Clinical Trials Committee systematic review," Journal of Pediatric Surgery, vol. 47, no. 11, 2012
6. Albansese CT, Rowe MI. Necrotizing enterocolitis. In: O'Neill Jr. JA, Rowe MJ, Grosfeld JL, Fankalsrud EW, Coran AG. Pediatric surgery 1998 p1297-320
7. Martin CR, Walker WA. Intestinal immune defences and the inflammatory response in necrotising enterocolitis, Semin Fetal Neonatal Med 2006, 11:369-77
8. Steidler L, Hans W, Schotte L, Neiryneck S, Obermeier F, Falk W et al. Treatment of murine colitis by Lactococcus lactis secreting interleukin-10. Science 2000; 289 (5483) :1352-5
9. Du X, Liu Q, Yang Z, Orazi A, Rescorla FJ, Grosfeld JL et al. Protective effects of interleukin-11 in a murine model of ischemic bowel necrosis. Am J Physiol 1997;272:545-52
10. C. L. Leaphart, J. Cavallo, S.C.Gribar et al., "A critical role for TLR4 in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis by modulating intestinal injury and repair," Journal of Immunology, vol. 179, no. 7, pp. 4808–4820, 2007.
11. C. P. Sodhi, H. S. Shi, W. M. Richardson et al., "Toll-like receptor-4 inhibits enterocyte proliferation via impaired  $\beta$ -catenin signaling in necrotizing enterocolitis," Gastroenterology, vol. 138, no. 1, pp. 185–196, 2010.
12. W. Huang, Y. Tang, and L. Li, "HMGB1, a potent proinflammatory cytokine 708–718, 2012. in sepsis," Cytokine, vol. 51, no. 2, pp. 119–126, 2010.
13. Kanto WP, Hunter JE, Stoll BJ. Recognition and medical management of necrotizing enterocolitis. Clin Perinatal 1994. 21:335-46
14. C.P.Sodhi, M. D. Neal, R. Siggers et al :Intestinal epithelial toll-like receptor 4 regulates goblet cell development and is required for necrotizing enterocolitis in mice. Gastroenterology vol.143,no 3,pp 708-718,2012
15. Ghosh S, Karin M. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle. Cell.2002;109(Suppl) pp 81-96.
16. DiDonato JA, Hayakawa M, Rothwarf DM, Zandi E, Karin M. A cytokine-responsive I kappa B kinase that activates the transcription factor NF-kappaB. Nature. 1997; 388 (6642) :548–554.
17. Roff M, Thompson J, Rodriguez MS, Jacque JM, Baleux F, Arenzana-Seisdedos F, Hay RT. Role of I kappa B alpha ubiquitination in signal-induced activation of NFkappaB in vivo. J Biol Chem. 1996;271(13):7844–7850.
18. Chiao PJ, Miyamoto S, Verma IM. Autoregulation of I kappa B alpha activity. Proc Natl Acad Sci USA. 1994;91(1):28–32.
19. Sun SC, Ganchi PA, Ballard DW, Greene WC. NF-kappa B controls expression of inhibitor I kappa B alpha: evidence for an inducible autoregulatory

pathway. *Science*. 1993; 259 (5103) : 1912–1915.

20. Claud EC, Lu L, Anton PM, Savidge T, Walker WA, Cherayil BJ. Developmentally regulated IkappaB expression in intestinalepithelium and susceptibility to flagellin-induced inflammation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101(19):7404–7408.

21. Claud EC, Zhang X, Petrof EO, Sun J. Developmentally regulated tumor necrosis factor-alpha induced nuclear factor-kappaB activation in intestinal epithelium. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2007; 292 (5):G1411–1419.

22. Nanthakumar NN, Young C, Ko JS, Meng D, Chen J, et al. (2005) Glucocorticoid responsiveness in developing human intestine: possible role in prevention of necrotizing enterocolitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 288: G85–92.

23. Ohnuma K, Yamochi T, Uchiyama M, Nishibashi K, Iwata S, et al. (2005) CD26 mediates dissociation of TOLLIP and IRAK-1 from caveolin-1 and induces upregulation of CD86 on antigen-presenting cells. *Mol Cell Biol* 25: 7743–57.

24. Pediatrics; originally published online; R. Ramchandran, D. Dimmock, V. Sampath, H. Menden, D. Helbling, K. Li, A. Gastonguay, SIGIRR Genetic Variants in Premature Infants With Necrotizing Enterocolitis, *American Academy of Pediatrics*, May 11. 201525. Caplan MS, Hsueh W, Kelly A, Donovan M. :Serum PAF acetylhydrolase increases during neonatal maturation. *Prostaglandins* 1990. 39: 705 -14.

26. Caplan MS, Sun XM, Hsueh W, Hageman JR. Role of platelet activating factor and tumor necrosis factor-alpha in neonatal necrotizing enterocolitis *J Pediatr* 1990 116:960-4.