

Динамика уровня белка плотных контактов энтероцитов Claudin-2 у детей первых месяцев жизни

И.А. Бавыкина¹, А.А. Бердников², А.А. Звягин¹, А.В. Кубышкина^{1, 2}, Л.Н. Антакова¹

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Воронеж, Россия;

²БУЗ ВО «Воронежская областная детская клиническая больница №1», Воронеж, Россия

Dynamics of Claudin-2 tight junction protein levels in enterocytes of infants during the first months of life

I.A. Bavykina¹, A.A. Berdnikov², A.A. Zvyagin¹, A.V. Kubyshkina^{1, 2}, L.N. Antakova¹

¹Voronezh Burdenko State Medical University, Voronezh, Russia;

²Voronezh Regional Children's Clinical Hospital No. 1, Voronezh, Russia

Неспецифичность симптомов нарушения толерантности к энтеральной нагрузке, отсутствие лабораторных и инструментальных методик, позволяющих определить ранние изменения проницаемости кишечной стенки, делают своевременную оценку состояния кишечного барьера у новорожденных сложной клинической задачей. Надежные и специфичные маркеры, позволяющие дифференцировать функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта с начальными стадиями хирургической патологии у новорожденных — область, представляющая большой интерес для широкого круга специалистов.

Цель исследования. Оценка влияния гестационного возраста на уровень белка плотных контактов (Claudin-2) в сыворотке крови у детей в первые месяцы жизни.

Материалы и методы. В исследование включены 115 новорожденных с гестационным возрастом 33–41 нед (*Me* 38,0 [36,0; 39,0] нед). Дети разделены на группы в соответствии с гестационным возрастом: 1-я группа — доношенные, *Me* гестационного возраста 39,0 [38,0; 40,0] нед, *n*=80; 2-я группа — недоношенные, *Me* гестационного возраста 35,0 [34,5; 36,0] нед, *n*=35. Определяли уровень Claudin-2 в сыворотке крови в первые месяцы жизни.

Результаты. Установлено увеличение концентрации сывороточного Claudin-2 с 3,434 [1,198; 7,866] нг/мл в первые 10 сут жизни до 5,147 [3,529; 8,211] нг/мл (*p*=0,02) к 1–1,5 мес, наиболее выраженное у доношенных (с 1,508 [1,004; 4,33] нг/мл до 4,302 [3,188; 5,776] нг/мл; *p*<0,001). Отмечена обратная связь гестационного возраста и концентрации Claudin-2 в первые дни жизни (–0,507; *p*<0,001), ослабевающая к 1–1,5 месяцам (–0,342; *p*<0,001). Выявили более высокие концентрации Claudin-2 у недоношенных в постменструальном возрасте 40–41 нед по сравнению с таковой у доношенных при рождении (*p*<0,001).

Заключение. Результаты демонстрируют влияние гестационного возраста на уровень Claudin-2 в первые месяцы жизни, что позволяет выдвинуть предположение об усиленной кишечной проницаемости у менее зрелых в гестационном отношении детей, опосредованной вариабельностью экспрессии Claudin-2.

Ключевые слова: недоношенные, кишечная проницаемость, Claudin-2, белки плотных контактов, гестационный возраст.

Для цитирования: Бавыкина И.А., Бердников А.А., Звягин А.А., Кубышкина А.В., Антакова Л.Н. Динамика уровня белка плотных контактов энтероцитов Claudin-2 у детей первых месяцев жизни. Рос вестн перинатол и педиатр 2024; 69:(6): 59–65. DOI: 10.21508/1027-4065-2024-69-6-59-65

The non-specific symptoms of impaired tolerance to enteral feeding and the lack of laboratory and instrumental methods for early detection of changes in intestinal permeability make timely assessment of the intestinal barrier in newborns a complex clinical challenge. Identifying reliable and specific markers that differentiate between functional gastrointestinal disorders and early stages of surgical pathology in newborns is an area of significant interest for a wide range of specialists.

Purpose. The study aimed to evaluate the impact of gestational age on the serum levels of Claudin-2, a tight junction protein in enterocytes, in infants during the first months of life.

Material and methods. The study included 115 newborns with gestational ages (GA) ranging from 33 to 41 weeks (median GA 38.0 [36.0–39.0] weeks). The infants were divided into two groups based on GA: Group 1 (term infants, median GA 39.0 [38.0–40.0] weeks, *n*=80) and Group 2 (preterm infants, median GA 35.0 [34.5–36.0] weeks, *n*=35). Serum Claudin-2 levels were measured during the first months of life using a Human CLDN2 enzyme immunoassay kit.

Results. Serum Claudin-2 concentrations increased from 3.434 [1.198; 7.866] ng/ml in the first 10 days of life to 5.147 [3.529; 8.211] ng/ml (*p*=0.02) by 1–1.5 months, with the most pronounced increase observed in term infants (from 1.508 [1.004; 4.33] ng/ml to 4.302 [3.188; 5.776] ng/ml, *p*<0.001). An inverse correlation was noted between GA and Claudin-2 concentration in the first days of life (–0.507, *p*<0.001), which weakened by 1–1.5 months (–0.342, *p*<0.001). Additionally, higher Claudin-2 concentrations were observed in preterm infants at a postmenstrual age of 40–41 weeks compared to full-term infants at birth (*p*<0.001).

Conclusion. The findings demonstrate the influence of GA on Claudin-2 levels in the first months of life, suggesting increased intestinal permeability in infants with lower gestational maturity, mediated by variable Claudin-2 expression.

Key words: premature, intestinal permeability, Claudin-2, tight junction proteins, gestational age.

For citation: Bavykina I.A., Berdnikov A.A., Zvyagin A.A., Kubyshkina A.V., Antakova L.N. Dynamics of the level of the protein of tight junction of enterocytes Claudin-2 in children of the first months of life. Ros Vestn Perinatol i Peditr 2024; 69:(6): 59–65 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2024-69-6-59-65

Нарушение проницаемости кишечной стенки лежит в основе патогенеза многих заболеваний, развивающихся в неонатальном периоде. Наиболее грозное и сложное среди них как в диагностическом, так и терапевтическом аспектах некротизирующий энтероколит [1–3]. Известно, что по мере снижения гестационного возраста увеличивается частота развития некротизирующего энтероколита, что связано с наличием у недоношенных детей специфических факторов риска. К ним относятся потребность в переводе после рождения в отделения интенсивной терапии и, как следствие, повышенный риск контаминации больничной флорой, гипоксия и асфиксия при рождении, повышенная проницаемость незрелой кишечной стенки, которая служит прямым патогенетическим субстратом для развития некротизирующего энтероколита [2, 4].

Установлено, что у плодов с меньшим сроком гестации во всех отделах кишечника выше содержание кишечных стволовых клеток, обеспечивающих быстрый рост и развитие интестинального тракта [5, 6]. Предшественники клеток кишечного эпителия — кишечные стволовые клетки — расположены у основания кишечных крипт и мигрируют после дифференцировки вверх к кишечным ворсинкам за исключением клеток Панета, перемещающихся в противоположном направлении [5]. Недоношенные дети рождаются на стадии развития кишечной стенки, характеризующейся высоким содержанием кишечных стволовых клеток и сниженным количеством зрелых дифференцированных клеток, что служит одной из причин повышенной проницаемости кишечной стенки у детей этой группы [6]. Экспериментальные исследования на лабораторных животных продемонстрировали усиление апоптоза зрелых клеток кишечного эпителия и снижение про-

лиферации кишечных стволовых клеток при развитии некротизирующего энтероколита [7].

Неспецифичность симптомов нарушения толерантности к энтеральной нагрузке, отсутствие лабораторных и инструментальных методик, позволяющих определить ранние изменения проницаемости кишечной стенки до появления больших клинических признаков, характерных для далеко зашедшего патологического процесса, делают своевременную оценку состояния кишечного барьера у новорожденных сложной клинической задачей [1, 8]. В связи с этим актуальными становятся исследования по изучению биомолекул, характеризующих проницаемость кишечника у новорожденных, их зависимость от гестационного срока и диагностические возможности при различных нозологиях. Надежные и специфичные маркеры, позволяющие дифференцировать функциональные нарушения желудочно-кишечного тракта с начальными стадиями хирургической патологии у новорожденных — область, представляющая большой интерес для широкого круга специалистов.

В качестве перспективного биомаркера проницаемости кишечной стенки у младенцев может рассматриваться клаудин-2 (Claudin-2). Клаудины — семейство трансмембранных белков, определяющих прочность механического каркаса и проницаемость кишечной стенки [9, 10]. Сведения о содержании клаудинов в норме и при патологии у новорожденных и детей грудного возраста крайне ограничены. Имеются единичные публикации, в которых обсуждается роль данного белка при патологии в этом возрасте. В частности, морфологическое исследование биоптатов, полученных в результате хирургического вмешательства при лечении некротизирующего энтероколита у новорожденных, установило, что экспрессия Claudin-2 в криптах эпителия толстой и тонкой кишки увеличена; имеются также данные об увеличении концентрации показателя в моче у пациентов с некротизирующим энтероколитом [11, 12]. В экспериментальном исследовании, проведенном S.K. Roy и соавт. [13], показана связь экспрессии Claudin-2 с активностью воспаления в кишечной стенке при моделировании некротизирующего энтероколита у лабораторных животных [13]. Изменение содержания Claudin-2 как показателя проницаемости стенки тонкой кишки изучается и в более старшем возрасте при гастроэнтерологической патологии [14, 15]. M.L.D.M. Ong и соавт. [16] установили, что экспрессия Claudin-2 была значительно выше у здоровых детей и детей с воспалительными заболеваниями кишечника при сравнении с аналогичными группами взрослых. Знание о физиологической роли Claudin-2 в поддержании гомеостаза кишечного барьера, а также о значении дисфункции плотных контактов при развитии синдрома раздраженного

© Коллектив авторов, 2024

Адрес для корреспонденции: Бавыкина Ирина Анатольевна — д.м.н., доц. кафедры факультетской и паллиативной педиатрии Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко, ORCID: 0000–0003–1062–7280

Звягин Александр Алексеевич — д.м.н., проф. кафедры пропедевтики детских болезней и поликлинической педиатрии Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко, ORCID: 0000–0002–3896–3297

Кубышкина Анастасия Васильевна — к.м.н., врач–анестезиолог–реаниматолог Воронежской областной клинической больницы №1; зам. начальника центра подготовки научных и научно-педагогических кадров Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко, ORCID: 0000–0001–6251–2579

394066 Воронеж, Московский п-т, д. 151 Б

Антакова Любовь Николаевна — к.б.н., ст. науч. сотр. научно-исследовательского института экспериментальной биологии и медицины Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко, ORCID: 0000–0001–5212–1005

394036 Воронеж, ул. Студенческая, д. 10

Бердников Андрей Анатольевич — зам. гл. врача по клинико-экспертной работе. Воронежская областная детская клиническая больница №1. 394024 Воронеж, ул. Бурденко, д. 1

кишечника, позволяет рассматривать изучаемый белок не только как маркер повреждения кишечника, но и как индикатор более тонких изменений — проницаемости кишечной стенки, например, при переходных состояниях у новорожденных [17].

Результаты приведенных исследований позволяют выдвинуть гипотезу о постнатальном изменении уровня экспрессии Claudin-2 и рассматривать этот белок как маркер зрелости кишечного барьера. Можно предположить, что по мере увеличения гестационной зрелости и постнатального роста уровень Claudin-2 снижается. Таким образом, Claudin-2 может рассматриваться как потенциальный маркер зрелости кишечного барьера у новорожденных. Проверка данной гипотезы и послужила обоснованием проведенного исследования.

Цель исследования: оценка влияния гестационного возраста на уровень белка плотных контактов Claudin-2 в сыворотке крови у детей в первые месяцы жизни.

Характеристика детей и методы исследования

В исследование включены 115 новорожденных детей: 72 (62,6%) мальчика и 43 (37,4%) девочки с гестационным возрастом 33–41 нед (*Me* 38,0 [36,0; 39,0] нед). Для формирования групп исследования дети разделены по признаку гестационного возраста: 1-я группа — доношенные дети (*Me* 39,0 [38,0; 40,0] нед, $n=80$); 2-я группа — недоношенные дети (*Me* 35,0 [34,5; 36,0] нед, $n=35$). В связи с осложненным течением неонатального периода дети переведены из родовспомогательных учреждений в отделения второго этапа выхаживания БУЗ ВО ВОДКБ№1. Медиана возраста на момент поступления в стационар и первого взятия образцов крови для исследования в группе доношенных составила 5,0 [4,0; 7,0] сут, недоношенных — 7,0 [4,0; 8,0] сут. Второе исследование у недоношенных детей проводили по достижении постменструального возраста доношенной беременности (40–41 нед), у доношенных — через 1 мес от первого исследования.

Антропометрические показатели детей при рождении и оценка по шкале Апгар представлены в табл. 1. Средние величины антропометрических

показателей в исследуемой выборке соответствуют сроку, на котором произошло родоразрешение, число детей с несоответствием физического развития гестационному возрасту в группах не было статистически значимыми ($p=0,585$). Группы сопоставимы по полу, характеру родоразрешения, перинатальным факторам риска ($p>0,05$).

Все вошедшие в исследование дети имели удовлетворительную переносимость энтеральной нагрузки, на момент проведения исследования никто из младенцев не находился на полном парентеральном питании. Новорожденные не имели установленного диагноза дисахаридазная недостаточность или других форм энтеропатий. У всех детей был стул со следующими характеристиками по шкале Беккали: количество 2–3, консистенция 2–3, цвет 2–5. При первом исследовании Claudin-2 доля детей, находящихся на искусственном вскармливании, в 1-й группе составила 6,2% против 34,3% во 2-й группе ($p<0,001$), при втором исследовании — 28,7 и 37,1% соответственно ($p<0,024$). Дети, находящиеся на разных типах вскармливания, не имели статистически значимых различий по уровню Claudin-2 в первые месяцы жизни.

Критерии соответствия для включения в исследование: возраст на момент первого забора крови до 10 сут; возраст при втором исследовании: для пациентов 1-й группы — постнатальный возраст 1–1,5 мес; для пациентов 2-й группы — постменструальный возраст 40–41 нед; отсутствие хирургической патологии и врожденных пороков развития желудочно-кишечного тракта, сопутствующих генетических синдромов; информированное согласие законного представителя на участие в исследовании.

Критерии не включения в исследование: возраст на момент первого забора крови более 10 сут; наличие хирургической патологии и врожденных пороков развития желудочно-кишечного тракта, сопутствующих генетических синдромов; отказ законного представителя от участия в исследовании.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко протокол №4 от 21.09.2020 г.

Образцы крови на исследование брали на базе БУЗ ВО ВОДКБ№1 из периферических вен утром нато-

Таблица 1. Антропометрические показатели при рождении и оценка по шкале Апгар обследованных детей

Table 1. Birth anthropometrics and Apgar score

Показатель	1-я группа 37–41-я неделя	2-я группа 33–36-я неделя
Оценка по шкале Апгар, баллы (<i>Me</i> [IQR])		
1-я минута	7,0 [7,0; 8,0]	7,0 [6,0; 7,0]
5-я минута	9,0 [8,0; 9,0]	8,0 [8,0; 8,0]
Масса при рождении, г (<i>Me</i> [IQR])	3450,0 [3075,0; 3705,0]	2600,0 [2195,0; 2855,0]
Рост при рождении, см (<i>Me</i> [IQR])	53,0 [52,0; 55,0]	49,0 [47,0; 51,0]
Окружность головы при рождении, см (<i>Me</i> [IQR])	35,0 [34,0; 35,5]	33,0 [31,0; 33,0]

шак в пробирки Vacuette с красной крышкой (Greiner bio-one, Австрия). Пробы замораживали и хранили при температуре -40°C , срок хранения проб составил менее 4 мес. Лабораторные исследования выполнены на базе НИИ экспериментальной биологии и медицины ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко Минздрава России.

Исследование уровня Claudin-2 осуществляли с помощью набора реагентов для иммуноферментного анализа Human CLDN2 (Claudin-2) ELISA Kit (Wuhan Fine Biotech Co., Ltd (Fine Test), Китай) на анализаторе Multiskan Go (Thermo Fisher Scientific, Финляндия) с использованием планшета-отмывателя для иммуноферментного анализа Wellwash (Thermo Fisher Scientific, Финляндия) и термошейкера PST-60HL-4 (Biosan, Латвия). Сыворотку крови получали стандартным методом (центрифугирование при 3000 об/мин в течение 10 мин на центрифуге LMC-3000 (Biosan, Латвия). Работа велась с помощью механических дозаторов Prolain Plus переменного объема 1-канальный 2–20 мкл, 20–200 мкл, 100–1000 мкл, 8-канальный 30–300 мкл («Sartorius (Biohit)», Финляндия). Исследование проводилось строго по инструкции, приложенной к набору реагентов.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программы StatTech v. 4.3.2 (ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивали на соответствие нормальному распределению с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Установлено отсутствие нормального распределения. Количественные данные описаны с помощью медианы, нижнего и верхнего квартилей, сравнение двух независимых групп по количественному показателю выполнено с помощью U-критерия Манна–Уитни, зависимых — критерия Вилкоксона, направление и теснота корреляции между двумя количественными показателями оценена с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты, полученные в исследовании, демонстрируют повышение содержания Claudin-2 в сыворотке крови по мере постнатального роста ребенка: концентрация Claudin-2 в неонатальном периоде (первое исследование) составила 3,434 [1,198;

7,866] нг/мл, при втором исследовании — 5,147 [3,529; 8,211] нг/мл. Выявленные различия содержания Claudin-2 статистически значимы ($p = 0,02$).

Более точные данные в зависимости от гестационного возраста приведены в табл. 2, из которой видны различные тенденции динамики содержания Claudin-2 в выделенных группах: у доношенных новорожденных (1-я группа) отмечается увеличение концентрации в 2,9 раза ($p < 0,001$), а у недоношенных она практически не изменяется ($p > 0,05$). Анализ в группах показал, что дети, рожденные преждевременно, по сравнению с детьми, рожденными в срок, имели более высокий уровень сывороточного Claudin-2 в первом и втором исследовании.

Зависимость уровня Claudin-2 от гестационного возраста в первые дни после рождения (рис. 1) описывается коэффициентом ранговой корреляции Спирмена $\rho = -0,507$ ($p < 0,001$), что указывает на наличие отрицательной связи умеренной силы между показателями. По мере роста детей степень связи уменьшается, о чем свидетельствует снижение коэффициента Спирмена при повторном обследовании до $\rho = -0,342$ ($p < 0,001$), что соответствует умеренной тесноте связи по шкале Чеддока (рис. 2). Таким образом, влияние гестационного возраста на уровень Claudin-2 менее выражено через 1–1,5 мес жизни детей (см. рис. 2).

Включенные в исследование недоношенные дети в процессе жизни при достижении постменструального возраста 40–41 нед становятся сопоставимыми по антропометрическим данным с доношенными в первые дни после рождения. Именно в это время у них повторно брали образцы крови и поэтому особый интерес представляло такое сравнение между группами. Сопоставление уровня Claudin-2 при первом исследовании у доношенных с уровнем Claudin-2 у рожденных преждевременно по достижении постменструального возраста 40–41 нед (второе исследование) установило статистически значимо более высокие концентрации у детей 2 группы ($p < 0,01$) (рис. 3).

Обсуждение

Поиск новых маркеров проницаемости кишечной стенки составляет актуальную клинко-диагностическую задачу современности [18, 19]. Claudin-2 относится к порообразующим клаудинам, ответственным

Таблица 2. Уровень Claudin-2 в сыворотке крови у обследованных детей в зависимости от гестационного срока
Table 2. Serum levels of Claudin-2 in relation to gestational age in children under investigation

Срок диагностики	Группа/Гестационный срок, нед	n	Claudin-2, нг/мл		p
			Me	$Q_1; Q_3$	
Первое исследование	1-я / 37–41	80	1,508	1,004; 4,33	<0,001
	2-я / 33–36	35	8,124	6,448; 13,676	
Второе исследование	1-я / 37–41	80	4,302	3,188; 5,776	<0,001
	2-я / 33–36	35	7,991	6,055; 12,36	

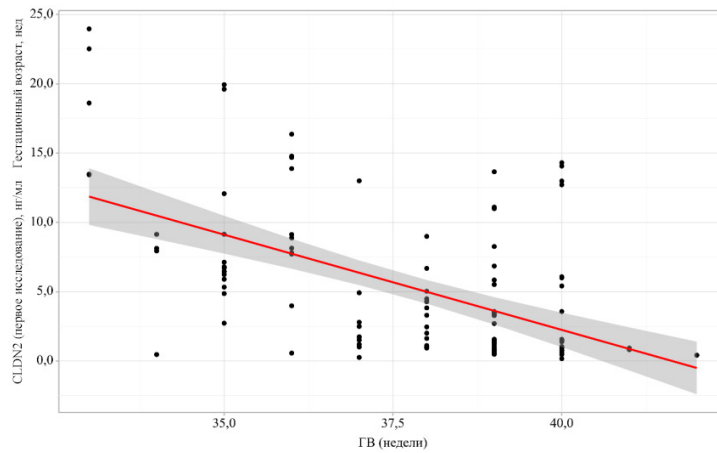


Рис. 1. Регрессионная функция, характеризующая взаимосвязь уровня Claudin-2 и гестационного возраста у пациентов в возрасте до 10 дней.

Fig. 1. Regression function graph showing the relationship between claudin-2 levels and gestational age in patients under 10 days).

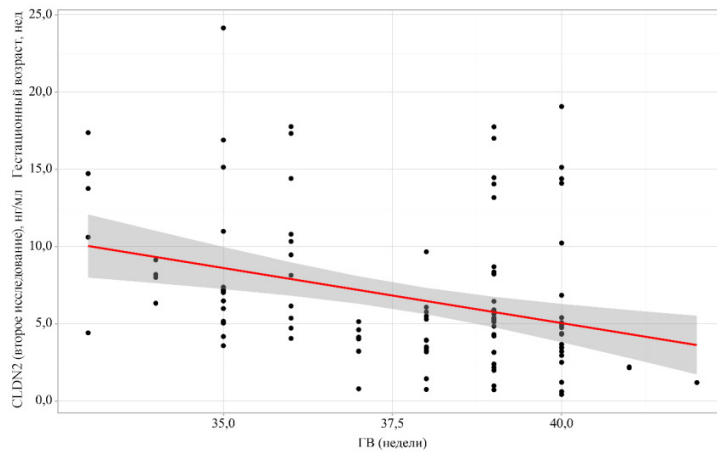


Рис. 2. Регрессионная функция, характеризующая взаимосвязь уровня Claudin-2 и гестационного возраста, у пациентов в возрасте 1–1,5 мес.

Fig. 2. Regression function graph showing the relationship between claudin-2 levels and gestational age in patients aged 1–1.5 months).

за формирование межклеточных каналов для воды и легких катионов [20]. Усиление экспрессии Claudin-2 приводит к повышению проницаемости кишечного барьера, что может отмечаться как в норме, так при развитии патологии [1, 16, 20]. Увеличение интестинальной проницаемости при развитии воспалительных заболеваний кишечника поддерживает течение синдрома мальабсорбции вследствие увеличения парацеллюлярной проницаемости для воды и натрия [16]. В норме высокая проницаемость кишечной стенки на ранних этапах постнатального развития может иметь положительное влияние, выражающееся в облегченном транспорте нутриентов или играть роль в развитии иммунологической толерантности [20]. Постнатальные изменения экспрессии Claudin-2 продемонстрированы в экспериментах на животных: экспрессия Claudin-2 максимальна после рождения, далее снижается и подвержена наиболее сильным изменениям в период отлучения животных от молочного вскармливания [21].

Результаты собственных наблюдений демонстрируют статистически значимое увеличение концентрации сывороточного Claudin-2 в первые месяцы жизни ($p=0,02$) в исследуемой выборке, что не согласуется с данными литературы, приведенными ранее [16, 21]. Оценка динамики уровня сывороточного Claudin-2 в группах показала, что у детей, рожденных недоношенными, содержание Claudin-2 практически не менялось за период 1–1,5 мес жизни, в отличие от уровня Claudin-2 у доношенных, который статистически значимо увеличился за аналогичный период жизни. Объяснение выявленной динамики у детей затруднительно в связи с малым числом исследований, посвященных Claudin-2 в различные возрастные периоды, и, как следствие, отсутствием референсных значений. Представляется важным отметить кардинальные преобразования в типе питания после рождения: гематотрофный тип у плода, меняется на лактотрофный у новорожденного. Вероятно, эта трансформация находит отражение в изме-

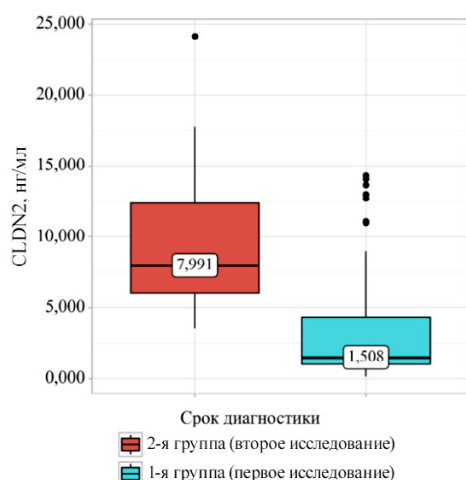


Рис. 3. Уровень Claudin-2 у доношенных новорожденных в возрасте до 10 дней и недоношенных в постменструальном возрасте 40–41 нед.

Fig. 3. The level of Claudin-2 in term newborns under the age of 10 days and premature infants postmenstrual aged 40–41 weeks).

нении проницаемости кишечной стенки и динамике экспрессии белков плотных контактов. Для плода, получающего основной набор нутриентов непосредственно в кровоток, высокая проницаемость кишечной стенки не имеет критического значения, в отличие от новорожденного и грудного ребенка на энтеральном типе питания, которые имеют повышенные потребности в микро- и макронутриентах, что может частично удовлетворяться через изменение проницаемости кишечного барьера. Зная о сложных изменениях в составе женского молока в процессе лактогенеза для обеспечения оптимального содержания нутриентов, необходимых для ребенка на каждом этапе постнатального роста, считаем возможным существование подобных адаптационных механизмов у младенцев, связанных с проницаемостью кишечной стенки. Продолжая анализ выявленных противоречий с данными литературы, можно предположить наличие дополнительных факторов, влияющих на уровень изучаемого белка, например характер вскармливания, прием антибактериальных препаратов и др., а также различиями в скорости постнатального созревания кишечного барьера у животных и человека.

В ходе исследования отмечены высокие уровни сывороточного Claudin-2 у недоношенных детей в первые месяцы жизни, установлена обратная корреляция содержания Claudin-2 с гестационным возрастом. Это позволяет сделать вывод об усиленной проницаемости кишечной стенки у менее зрелых в гестационном отношении детей, опосредованной вариативностью экспрессии Claudin-2. Высокий уровень сывороточного Claudin-2 у недоношенных в постменструальном возрасте доношенной беременности, по сравнению со значениями Claudin-2 у детей, рожденных в срок, дает основания полагать,

что показатели проницаемости кишечной стенки у недоношенных детей не достигают к постменструальному возрасту доношенной беременности значений, характерных для детей, рожденных в срок. Мы склонны считать, что установленные нами связи уровня Claudin-2 с гестационным и постнатальным возрастом служат отражением процесса, направленного на обеспечение быстрого роста, формирования иммунологической толерантности у ребенка. В то же время повышенная проницаемость кишечной стенки может стать патофизиологической основой для развития заболеваний, связанных с транслокацией кишечного микробиома. В связи с этим перспективными могут быть исследования по изучению уровня сывороточного Claudin-2 у новорожденных с патологией, характеризующейся повышенной проницаемостью кишечника.

Ограничения исследования связаны с небольшим размером выборки, отсутствием в исследовании детей со сроком гестации менее 33 нед, малым сроком наблюдения за детьми. Кроме того, ограничением служит применение наборов реагентов, используемых только в научных целях, для определения уровня Claudin-2 и отсутствие в связи с этим референсных значений при интерпретации результатов исследования.

Заключение

Состояние кишечного барьера подвержено изменениям в течение жизни и зависит от многих факторов, один из важных — экспрессия белков плотных контактов. В работе показано увеличение уровня белка плотных контактов Claudin-2 в первые 1–1,5 мес жизни, наиболее выраженное у доношенных детей. Установлена обратная связь умеренной силы между гестационным возрастом и уровнем Claudin-2 после рождения, которая ослабевает в последующем. Это позволяет выдвинуть предположение об усиленной проницаемости кишечника у менее зрелых в гестационном отношении детей, опосредованной вариативностью экспрессии Claudin-2. Сформулированные в ходе исследования выводы в настоящее время являются лишь авторской гипотезой, требующей подтверждения в экспериментах на животных моделях, а также в ходе более крупных клинических исследований, включающих детей с меньшим гестационным возрастом. Перспективными считаем исследования по изучению онтогенетической изменчивости белков плотных контактов, их роли в постнатальном росте ребенка, формировании системной иммунологической толерантности и возможном участии в эпигенетическом программировании неинфекционных заболеваний. Дальнейшее изучение маркеров повышенной проницаемости тонкой кишки, в частности Claudin-2, требует определения референсных значений и будет способствовать их внедрению в клиническую практику.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Roberts A.G., Younge N., Greenberg R.G. Neonatal Necrotizing Enterocolitis: An Update on Pathophysiology, Treatment, and Prevention. *Paediatr Drugs* 2024; 26(3): 259–275. DOI: 10.1007/s40272–024–00626-w
2. Duess J.W., Sampah M.E., Lopez C.M., Tsuboi K., Scheese D.J., Sodhi C.P. et al. Necrotizing enterocolitis, gut microbes, and sepsis. *Gut Microbes* 2023; 15(1): 2221470. DOI: 10.1080/19490976.2023.2221470
3. Бердников А.А., Бавыкина И.А. Значение клаудина-2 в диагностике некротизирующего энтероколита у детей (краткий обзор). *Вестник новых медицинских технологий* 2022; 29(4): 65–68. [Berdnikov A.A., Bavykina I.A. The importance of claudin-2 in the diagnosis of necrotizing enterocolitis in children (short review). *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologii* 2022; 29(4): 65–68. (in Russ.)] DOI: 10.24412/1609–2163–2022–4–65–68
4. Cuna A., Morowitz M.J., Ahmed I., Umar S., Sampath V. Dynamics of the preterm gut microbiome in health and disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2021; 320(4): G411–G419. DOI: 10.1152/ajpgi.00399.2020
5. Lueschow S.R., McElroy S.J. The Paneth Cell: The Curator and Defender of the Immature Small Intestine. *Front Immunol* 2020; 11: 587. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00587
6. Frazer L.C., Good M. Intestinal epithelium in early life. *Mucosal Immunol* 2022; 15(6): 1181–1187. DOI: 10.1038/s41385–022–00579–8
7. Hosfield B.D., Shelley W.C., Mesfin F.M., Brokaw J.P., Manohar K., Liu J. et al. Age disparities in intestinal stem cell quantities: a possible explanation for preterm infant susceptibility to necrotizing enterocolitis. *Pediatr Surg Int* 2022; 38(12): 1971–1979. DOI: 10.1007/s00383–022–05257–1
8. Martin C.A., Markel T.A. Preface: Necrotizing enterocolitis. *Semin Pediatr Surg* 2023; 32(3): 151303. DOI: 10.1016/j.sempedsurg.2023.151303
9. Лошкова Е.В., Прудникова В.К., Рафикова Ю.С., Ким Л.В., Люлька Т.С., Желев В.А. и др. Некротизирующий энтероколит у недоношенных детей: состояние кишечного барьера, особенности метаболизма витамина D и их генетическая регуляция. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология* 2022; 6: 61–75. [Loshkova E.V., Prudnikova V.K., Rafikova Yu.S., Kim L.V., Lyulka T.S., Zhelev V.A. et al. Necrotizing enterocolitis in preterm infants: state of the intestinal barrier, features of vitamin D metabolism and their regulation. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya* 2022; 6: 61–75. (in Russ.)] DOI: 10.31146/1682–8658-ecg-202–6–61–75
10. Liu X.C., Li L.Q., Ling K.R., Guo L., Hu X.Y., Li C. Fecal HBD-2 and Claudin-3 may be potential biomarkers to predict the deterioration of necrotizing enterocolitis: A prospective study. *Front Pediatr* 2022; 10: 1062798. DOI: 10.3389/fped.2022.1062798
11. Bergmann K.R., Liu S.X., Tian R., Kushnir A., Turner J.R., Li H.L. et al. Bifidobacteria Stabilize Claudins at Tight Junctions and Prevent Intestinal Barrier Dysfunction in Mouse Necrotizing Enterocolitis. *Am J Pathol* 2013; 182(5): 1595–1606. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.01.013
12. Blackwood M.D.B., R. Wood B.S.D., Y. Yuan B.S.C., D. Nicolas J., Griffiths M.D.A., Mestan M.D.K. et al. Urinary Claudin-2 Measurements as a Predictor of Necrotizing Enterocolitis: A Pilot Study. *J Neonatal Surg* 2015; 4(4): 43.
13. Roy S.K., Meng Q., Sadowitz B.D., Kollisch-Singule M., Yepuri N., Satalin J. et al. Enteral administration of bacteria fermented formula in newborn piglets: A high fidelity model for necrotizing enterocolitis (NEC). *PLoS One* 2018; 13(7): e0201172. DOI: 10.1371/journal.pone.0201172
14. Zeissig S., Bürgel N., Günzel D., Richter J., Mankertz J., Wahnschaffe U. et al. Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. *Gut* 2007; 56(1): 61–72. DOI: 10.1136/gut.2006.094375
15. Szakál D.N., Györfy H., Arató A., Cseh A., Molnár K., Papp M. et al. Mucosal expression of claudins 2, 3 and 4 in proximal and distal part of duodenum in children with coeliac disease. *Virchows Arch* 2010; 456(3): 245–50. DOI: 10.1007/s00428–009–0879–7
16. Ong M.L.D.M., Yervu S., Sailer A., Nilsen S.P., Turner J.R. Differential regulation of claudin-2 and claudin-15 expression in children and adults with malabsorptive disease. *Lab Invest* 2020; 100(3): 483–490. DOI: 10.1038/s41374–019–0324–8
17. Ishimoto H., Oshima T., Sei H., Yamasaki T., Kondo T., Tozawa K. et al. Claudin-2 expression is upregulated in the ileum of diarrhea predominant irritable bowel syndrome patients. *J Clin Biochem Nutrition* 2017; 60(2): 146–150. DOI: 10.3164/JCBN.16–92
18. Beggs M.R., Young K., Pan W., O'Neill D.D., Saurette M., Plain A. et al. Growth Factor Promotes Neonatal Claudin-2 Dependent Increases in Small Intestinal Calcium Permeability. *Function (Oxf)* 2023; 4(5): zqad033. DOI: 10.1093/function/zqad033
19. Holmes J.L., Van Itallie C.M., Rasmussen J.E., Anderson J.M. Claudin profiling in the mouse during postnatal intestinal development and along the gastrointestinal tract reveals complex expression patterns. *Gene Expr Patterns* 2006; 6(6): 581–588. DOI: 10.1016/j.modgen.2005.12.001
20. Хавкин А.И., Новикова В.П., Шаповалова Н.С. Перспективные неинвазивные биомаркеры: интестинальные белки в диагностике повреждений слизистой оболочки кишечника. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология* 2021; 4: 155–160. [Khavkin A.I., Novikova V.P., Shapovalova N.S. Perspective non-invasive biomarkers: intestinal proteins in the diagnosis for diagnosis and control of intestinal mucosal damage. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya* 2021; 4: 155–160. (in Russ.)] DOI: 10.31146/1682–8658-ecg-188–4–155–160
21. Хавкин А.И., Богданова Н.М., Новикова В.П. Биологическая роль зонулина и эффективность его использования в качестве биомаркера синдрома повышенной кишечной проницаемости. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2021; 66(1): 31–38 [Khavkin A.I., Bogdanova N.M., Novikova V.P. Biological role of zonulin: a biomarker of increased intestinal permeability syndrome. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Peditrii* 2021; 66(1): 31–38. (in Russ.)] DOI: 10.21508/1027–4065–2021–66–1–31–38

Поступила: 07.08.24

Received on: 2024.08.07

Выражение признательности.

Коллективу БУЗ ВО ВОДББ№1 в лице Жидкова М.Л. и коллективу НИИ ЭБМ ФГБОУ ВО ВГМУ им. Н.Н. Бурденко МЗ России.

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов и финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

Acknowledgement:

To the staff of the Voronezh Regional Children's Clinical Hospital No. 1, represented by M.L. Zhidkov, and the staff of the Research Institute of Experimental Biology and Medicine, Voronezh Burdenko State Medical University.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest and financial support, which should be reported.