

DOI: <https://doi.org/10.17816/ps670>

Моноаминоксидаза тромбоцитов и аденозинтрифосфатазы эритроцитов как биомаркеры некротизирующего энтероколита

П.К. Винель¹, В.В. Царева^{1, 2}, П.Г. Бабошко², А.И. Синицкий¹, А.С. Кожевников¹, А.В. Грунин¹¹ Южно-Уральский государственный медицинский университет, Челябинск, Россия;² Челябинская областная детская клиническая больница, Челябинск, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Диагностика некротизирующего энтероколита сложна и часто малоэффективна. Ранними предикторами развития, прогрессирования и тяжёлого течения заболевания могут являться биомаркеры, отражающие ключевые звенья этиопатогенеза.

Цель. Оценка потенциальной возможности определения активности тромбоцитарной моноаминоксидазы и аденозинтрифосфатаз эритроцитов для прогнозирования развития некротизирующего энтероколита у недоношенных новорождённых.

Методы. Исследование проведено в два этапа и включало 28 детей, находившихся на лечении в ГАУЗ «Челябинская областная детская клиническая больница» в период с ноября 2021 г. по декабрь 2022 г. На первом этапе обследовали недоношенных новорождённых, среди которых набрана группа детей с некротизирующим энтероколитом IIБ–IIIA–Б стадии. Для исследования использовали венозную кровь. Второй этап включал дополнительное исследование препаратов кишки, полученных при проведении оперативного вмешательства у новорождённых с хирургической патологией.

Результаты. У детей с некротизирующим энтероколитом наблюдали достоверно значимое снижение специфической активности моноаминоксидазы тромбоцитов, коррелирующее с активностью моноаминоксидазы в препаратах кишки. Установили снижение активности магниево-аденозинтрифосфатазы эритроцитов на 50–100% от максимальной активности фермента в контрольной группе, снижение активности натрий-калиевой аденозинтрифосфатазы эритроцитов в 4 раза от максимальных значений группы контроля, значительное повышение активности кальциевой аденозинтрифосфатазы эритроцитов.

Заключение. Полученные данные позволяют предположить, что моноаминоксидаза тромбоцитов у недоношенных новорождённых потенциально может являться индикатором незрелости тканей и органов, а не маркером воспаления и окислительного повреждения. Изменения активности аденозинтрифосфатаз эритроцитов у недоношенных с хирургическими стадиями некротизирующего энтероколита свидетельствуют о гипоксическом гипознергетическом состоянии, сопровождающимся высокими концентрациями внутриклеточного кальция. Результаты исследования перспективны с точки зрения разработки новых методов диагностики/прогноза некротизирующего энтероколита новорождённых.

Ключевые слова: некротизирующий энтероколит; моноаминоксидаза; АТФ-азы; биомаркеры.

Как цитировать:

Винель П.К., Царева В.В., Бабошко П.Г., Синицкий А.И., Кожевников А.С., Грунин А.В. Моноаминоксидазы тромбоцитов и аденозинтрифосфатазы эритроцитов как биомаркеры некротизирующего энтероколита // Детская хирургия. 2024. Т. 28. № 2. С. 124–132. DOI: <https://doi.org/10.17816/ps670>

DOI: <https://doi.org/10.17816/ps670>

Platelet monoamine oxidase and erythrocyte adenosine triphosphatase as biomarkers of necrotizing enterocolitis

Polina K. Vinel¹, Valentina V. Tsareva^{1,2}, Pavel G. Baboshko², Anton I. Sinitskii¹, Artem S. Kozhevnikov¹, Alexandr V. Grunin¹

¹ South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia;

² Chelyabinsk Regional Pediatric Hospital, Chelyabinsk, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: The diagnostics of necrotizing enterocolitis is a complex and often ineffective issue. Biomarkers reflecting key links in the pathogenesis of the disease may serve as early predictors of development, progression, and severe course of necrotizing enterocolitis.

AIM: To assess potentials of platelet monoamine oxidase activity and erythrocyte ATPase to predict the development of necrotizing enterocolitis in premature newborns.

METHODS: The present study had two stages and included 28 children who were treated at the Chelyabinsk Regional Children's Clinical Hospital from November 2021 to December 2022. At the first stage, premature newborns were examined; among them a group of newborns with necrotizing enterocolitis IIB–IIIA–B was identified. Venous blood was used for testings. At the second stage, specimens obtained from the intestine during surgical interventions in newborns with surgical pathology were examined additionally as well.

RESULTS: Children with necrotizing enterocolitis showed a significant decrease in the specific activity of platelet monoamine oxidase which correlated with the activity of monoamine oxidase in gut specimens. The following changes were registered: decrease in the activity of magnesium adenosine triphosphatase in erythrocytes by 50–100% of the maximum enzyme activity in the control group; decrease of sodium-potassium adenosine triphosphatase activity by 4 times from the maximum values in the control group. There was also a significant increase in the activity of calcium adenosine triphosphatase activity in erythrocytes.

CONCLUSION: The obtained data allow to suggest that platelet monoamine oxidase in preterm newborns may potentially serve as an indicator of tissue and organ immaturity, rather than a marker of inflammation and oxidative damage. Changes in erythrocyte adenosine triphosphatase activity in preterm infants with surgical stages of necrotizing enterocolitis indicate a hypoxic hypoenergetic state, accompanied by high concentrations of intracellular calcium.

The obtained data are promising for developing new methods for diagnosis/prognosis of necrotizing enterocolitis in newborns.

Keywords: necrotizing enterocolitis; monoamine oxidase; ATPases; biomarkers.

To cite this article:

Vinel PK, Tsareva VV, Baboshko PG, Sinitskii AI, Kozhevnikov AS, Grunin AV. Platelet monoamine oxidase and erythrocyte adenosine triphosphatase as biomarkers of necrotizing enterocolitis. *Russian Journal of Pediatric Surgery*. 2024;28(2):124–132. DOI: <https://doi.org/10.17816/ps670>

ОБОСНОВАНИЕ

Некротизирующий энтероколит (НЭК) — трудно и часто несвоевременно диагностируемое заболевание недоношенных новорождённых, в отсутствие безотлагательного терапевтического и хирургического лечения приводящее к необратимым повреждениям кишечника. Патогенетической основой НЭК являются как незрелость желудочно-кишечного тракта, так и сопутствующие ей неблагоприятные факторы: гипоксия, воспаление, ошибки при введении энтерального питания и др. [1]. Диагностика НЭК сложна и часто малоэффективна. Наиболее широко используемыми в клинической практике лабораторными показателями для выявления НЭК являются С-реактивный белок и прокальцитонин. Они малоэффективны для ранней диагностики заболевания и наиболее полезны для мониторинга динамики заболевания. Ранними предикторами развития, прогрессирования и тяжёлого течения НЭК могут являться биомаркеры, отражающие ключевые звенья этиопатогенеза заболевания [2]. Их можно использовать вместе с клиническими и инструментальными методами исследования при решении вопросов хирургической тактики ведения.

Моноаминоксидаза (МАО, КФ 1.4.3.4) — фермент внешней мембраны митохондрий, катализирующий дезаминирование биогенных аминов и ксенобиотиков, присутствующий практически во всех тканях. Высокая активность обеих изоформ фермента (МАО-А и МАО-Б) характерна для мозга, печени, почек, тканей тонкой и толстой кишки [3–4]. За время онтогенеза МАО-Б претерпевает выраженные изменения степени экспрессии и активности [4]. Наименьшая активность выявляется у плода, а с возрастом активность увеличивается [5]. МАО является кислородзависимым ферментом, активность которого закономерно снижается при гипоксии [6]. Таким образом, МАО-Б может являться как индикатором незрелости тканей и органов, так и косвенно указывать на состояние гипоксии. Наиболее доступный объект для определения активности МАО, отражающий изменения активности фермента в тканях — тромбоциты, для которых характерна исключительно активность изоформы МАО-Б [7]. Корреляция активности тромбоцитарной МАО-Б и МАО-Б тканей кишечника на настоящий момент не установлена, и попытка подтверждения её наличия предпринята в данной работе. Другим потенциально значимым биомаркером при НЭК могут быть аденозинтрифосфатазы (АТФ-азы, КФ 3.6.1.3 до 2020 г.) эритроцитов. Это хорошо изученный фермент, реагирующий уменьшением активности в ответ на гипоксию, сигнализирующий о наличии гипоенергетического состояния [8] и обладающий большим, практически нереализованным, маркерным потенциалом в отношении доношенных и недоношенных новорождённых.

ЦЕЛЬ

Определение активности тромбоцитарной МАО и АТФ-аз эритроцитов для оценки их участия в патогенезе и возможности использования в прогнозе развития НЭК II–III стадии.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено двухэтапное обсервационное ретроспективное исследование случай-контроль.

Критерии соответствия

Критерии включения: в исследование включены новорождённые с НЭК IIB–IIIA–B стадии, установленным согласно модифицированным критериям стадирования по Белл, добровольное информированное согласие законного представителя пациента на использование медицинских данных в научных целях и публикацию результатов исследования.

Критерии не включения: тяжёлые пороки развития желудочно-кишечного тракта, мочеполовой системы, органов грудной полости и средостения, генетические заболевания, злокачественные новообразования, отказ законного представителя от участия в исследовании.

Критерии исключения: отказ законного представителя от дальнейшего участия в исследовании, невозможность получения биоматериала для исследования.

Условия проведения

Исследование проведено на базе ГАУЗ «Челябинская областная детская клиническая больница». В исследовании участвовали 28 детей, находившихся на лечении в период с ноября 2021 г. по декабрь 2022 г.

Описание медицинского вмешательства

На первом этапе обследовали недоношенных новорождённых, из которых набрали основную группу — детей с НЭК IIB–IIIA–B, установленным согласно модифицированным критериям стадирования по Белл ($n=7$, срок гестации $30,7 \pm 0,49$ нед.; масса тела при рождении $1\ 300 \pm 208$ г) и контрольную группу ($n=12$, срок гестации $34,8 \pm 2,05$ нед.; масса тела при рождении $2\ 283 \pm 185$ г). Для исследования использовали венозную кровь, которую забирали в пробирки с антикоагулянтом — этилендиаминтетрауксусной кислотой. У детей основной группы кровь забирали при постановке диагноза (на 3–4 нед. жизни), у детей контрольной группы — на 1 нед. жизни. Таким образом был достигнут сопоставимый постконцептуальный возраст детей контрольной и опытной групп (34–35 нед.), отражающий степень морфофункционального развития ребёнка.

Второй этап включал одномоментное исследование интраоперационного материала — препаратов кишки

и тромбоцитов венозной крови ($n=9$), полученных при проведении оперативного вмешательства у новорождённых с хирургической патологией (НЭК, атрезия ануса, нейрональная дисплазия).

Активность MAO тромбоцитов и кишки определяли спектрофотометрическим методом по реакции с 2,4-динитрофенилгидразином (модификация метода G. Huang и соавт.) [9]. Активность АТФ-азы в эритроцитах измеряли по степени высвобождения неорганического фосфата (G. Bartolommei и соавт.) [10].

Статистический анализ

Статистический анализ выполнен с использованием пакета прикладных компьютерных программ SPSS-17.0. Статистическую значимость отличий оценивали с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни, результаты описательной статистики выражали в виде медианы (*Me*) и диапазона между «нижним» (LQ, 25 процентиль) и «верхним» (UQ, 75 процентиль) квартилями. Корреляционный анализ проводили с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В группе детей с НЭК выявлено значимое снижение активности MAO тромбоцитов по сравнению с контрольной группой (рис. 1).

Для получения объективных данных и установления специфичности маркера в отношении тканей кишечника, было проведено сопоставление активности MAO в образцах кишечной стенки и в тромбоцитах крови, полученных во время оперативного вмешательства (табл. 1). Установлена прямая корреляционная связь между активностью MAO-Б в препаратах кишки и активностью MAO-Б в тромбоцитах ($0,837, p=0,01$).

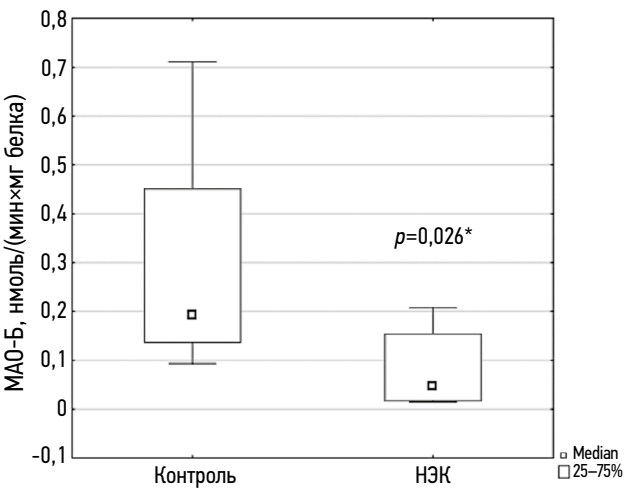


Рис. 1. Активность тромбоцитарной моноаминоксидазы: MAO-Б — моноаминоксидаза Б; Контроль — контрольная группа; НЭК — группа больных некротизирующим энтероколитом; Median — медиана; * — различия статистически значимы по отношению к контролю по критерию Манна–Уитни.

Fig. 1. Platelet monoamine oxidase activity: MAO-B — monoamine oxidase B; Контроль — control group; НЭК — group of patients with necrotizing enterocolitis; * — differences are statistically significant compared to the control according to the Mann–Whitney criterion.

Активность MAO-A, широко распространённой в тканях кишечника, никак не коррелировала со значениями тромбоцитарной MAO и возрастом ребёнка на момент взятия биологического материала и была относительно высокой как у доношенных, так и недоношенных детей (см. табл. 1).

У недоношенных новорождённых с НЭК наблюдали четырёхкратное снижение активности натрий-калиевой (Na/K) АТФ-азы эритроцитов — $0,093 (0,075–0,247)$ мкмоль/(мин×мг Hb), среди детей контрольной группы — $0,383 (0,213–0,601)$ мкмоль/(мин×мг Hb) (рис. 2).

Таблица 1. Активность моноаминоксидазы тромбоцитов и кишечника у детей с хирургической патологией

Table 1. Platelet and intestinal monoamine oxidase activity in children with surgical pathology

Диагноз	Гестационный возраст, нед. / Масса тела при рождении, г	Возраст в момент взятия биоматериала, дни	MAO, нмоль/(мин×мг белка)		
			Препарат кишки		Тромбоциты
			MAO-A	MAO-B	MAO-B
Атрезия ануса	39 / 3120	1	6,32	0,69	0,08
Атрезия ануса	39 / 2740	1	2,64	0,66	0,13
НЭК (перфорация)	32 / 960	17	1,52	0,66	0,66
Нейрональная дисплазия	36 / 2010	34	2,17	0,15	0,02
НЭК (перфорация)	35 / 3270	36	0,73	0,26	0,04
Нейрональная дисплазия	38 / 2850	71	17,7	0,10	0,07
НЭК (закрытие стомы)	27 / 990	76	13,38	2,26	1,87
НЭК (с исходом в стеноз)	29 / 950	86	3,91	1,28	1,13
НЭК (закрытие стомы)	32 / 960	96	0,67	0,76	0,38

Примечание. НЭК — некротизирующий энтероколит; MAO — моноаминоксидаза.

Note. НЭК — necrotizing enterocolitis; MAO — monoamine oxidase.

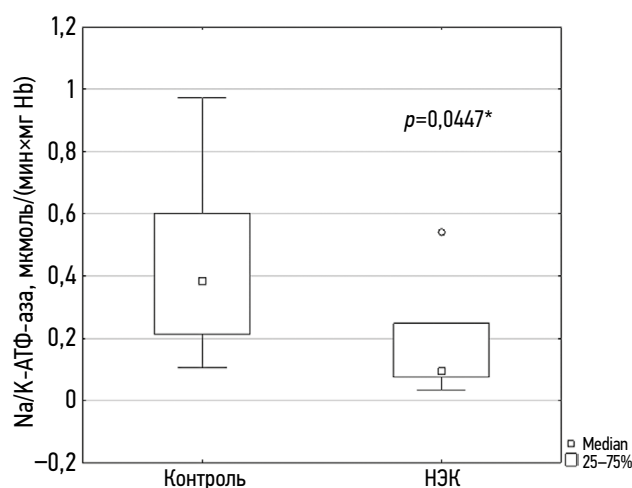


Рис. 2. Активность натрий-калиевой аденозинтрифосфатазы эритроцитов: Na/K-АТФ-аза — натрий-калиевая аденозинтрифосфатаза эритроцитов; Контроль — контрольная группа; НЭК — группа больных некротизирующим энтероколитом; Median — медиана; * — различия статистически значимы по отношению к контролю по критерию Манна–Уитни.

Fig. 2. Erythrocyte sodium-potassium adenosine triphosphatase activity: Na/K-АТФ-аза — erythrocyte sodium-potassium adenosine triphosphatase; Контроль — control group; НЭК — group of patients with necrotizing enterocolitis; * — differences are statistically significant compared to the control according to the Mann–Whitney criterion.

Выявлено статистически значимое снижение активности (вплоть до отсутствия) магниевой (Mg) АТФ-азы эритроцитов у детей с НЭК — 0 (0–0,2) мкмоль/(мин×мг Hb) в сравнении с максимальной активностью фермента у детей контрольной группы — 0,382 (0,178–0,519) мкмоль/(мин×мг Hb) (рис. 3).

У детей с хирургическими стадиями НЭК выявлена повышенная активность кальциевой (Ca) АТФ-азы эритроцитов — 0,6409 (0,5956–1,3503) мкмоль/(мин×мг Hb), по сравнению с детьми контрольной группы 0,2556 (0,1279–0,3830) мкмоль/(мин×мг Hb) (рис. 4).

Нежелательные явления

В ходе исследования не возникало нежелательных явлений. В случае, если состояние ребёнка, включённого в исследование, не позволяло получить достаточное количество биологического материала для определения активности изучаемых ферментов, ребёнка исключали из исследования.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сегодня данные, отражающие повышенную экспрессию и активность тромбоцитарной MAO в онтогенезе человека, особенно у недоношенных детей с патологией, ограничены и в основном используются для оценки состояния центральной нервной системы [11–13]. Полученные нами данные активности тромбоцитарной MAO

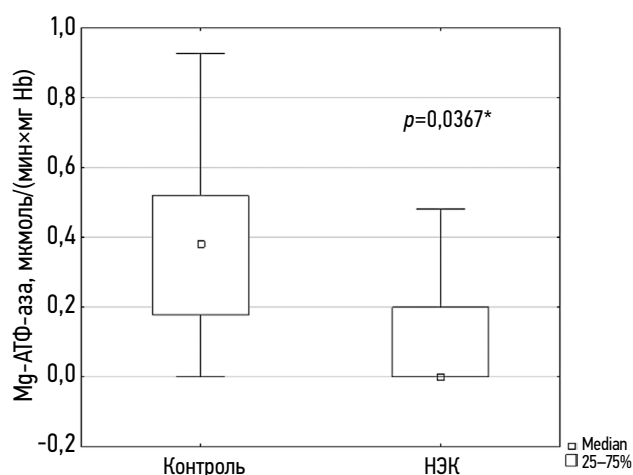


Рис. 3. Активность магниевой аденозинтрифосфатазы эритроцитов: Mg-АТФ-аза — магниевая аденозинтрифосфатаза эритроцитов; Контроль — контрольная группа; НЭК — группа больных некротизирующим энтероколитом; Median — медиана; * — различия статистически значимы по отношению к контролю по критерию Манна–Уитни.

Fig. 3. Erythrocytes magnesium adenosine triphosphatase activity: Mg-АТФ-аза — erythrocyte magnesium adenosine triphosphatase; Контроль — control group; НЭК — group of patients with necrotizing enterocolitis; * — differences are statistically significant compared to the control according to the Mann–Whitney criterion.

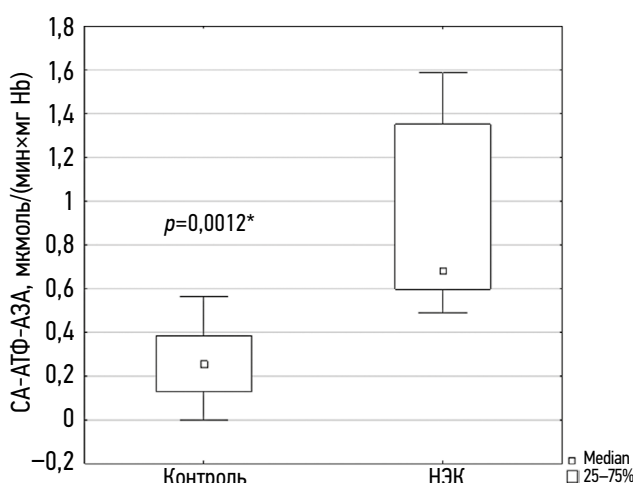


Рис. 4. Активность кальциевой аденозинтрифосфатазы эритроцитов: Ca-АТФ-аза — кальциевая аденозинтрифосфатаза эритроцитов; Контроль — контрольная группа; НЭК — группа больных некротизирующим энтероколитом; Median — медиана; * — различия статистически значимы по отношению к контролю по критерию Манна–Уитни.

Fig. 4. Erythrocytes calcium adenosine triphosphatase activity: Ca-АТФ-аза — erythrocyte calcium adenosine triphosphatase; Контроль — control group; НЭК — group of patients with necrotizing enterocolitis; * — differences are statistically significant compared to the control according to the Mann–Whitney criterion.

для контрольной группы практически соответствовали значениям, показанным J.B. Jones и соавт. для здоровых доношенных новорождённых при рождении [14]. Таким образом недоношенные дети контрольной группы,

у которых при ретроспективной оценке не развился НЭК, уже на 1 нед. жизни достигали функциональной зрелости ферментативной моноаминоксидазной системы тромбоцитов на уровне доношенных новорождённых, что, вероятно, может служить благоприятным прогностическим признаком системной зрелости тканей и указывает на относительно невысокие риски развития НЭК.

Низкая активность тромбоцитарной MAO у недоношенных новорождённых, соответствовала уровням активности MAO в тканях плода на 19–21 нед. гестации [5, 14–15]. Наблюдаемое отставание темпов становления ферментативной активности может отражать как системную функциональную незрелость моноаминоксидазной системы тканей, так и количественную/качественную транзиторную дисфункцию митохондрий, так как регуляция MAO осуществляется совместно с другими митохондриальными ферментами [16]. Нельзя полностью исключить и влияние системного гипоксического состояния на активность MAO, так как концентрация кислорода является лимитирующим фактором для моноаминоксидазной реакции. В полученных результатах ещё раз находит подтверждение тот факт, что активность MAO-B (но не MAO-A) в тканях, экспрессирующих данный фермент, находится под генетическим контролем и связана со стадиями развития плода и новорождённого в онтогенезе.

Для индикации системного гипоксического/гипоэнергетического состояния определялась активность АТФ-аз эритроцитов (табл. 1). Na/K-АТФ-аза (КФ 7.2.2.13) отвечает за поддержание мембранного потенциала любой живой клетки, за счёт обеспечения химического и электрического градиента. Для поддержания своей функциональной активности фермент использует от 1/3 до 50% клеточного АТФ, поэтому любые патологические состояния, приводящие к снижению парциального содержания кислорода в клетке (ишемическое повреждение, гипоксия) и нарушению работы дыхательной цепи (основной источник АТФ), отражаются на активности АТФ-азы [17]. У детей с НЭК наблюдали снижение активности Na/K-АТФ-азы эритроцитов. Ведущей причиной этого могут быть гипоперфузия и/или гипоксия, являющиеся важным патогенетическим фактором НЭК. Кроме того, имеются данные о системной низкой активности Na/K-АТФ-азы в следствие незрелости данного ионного транспортера у недоношенных новорождённых с гестационным возрастом до 35 нед. [18]. У обследованных нами детей с хирургическим НЭК повышения активности Na/K-АТФ-азы не наблюдалось несмотря на то, что кровь на исследование забирали не раньше 3–4 нед. после рождения, что также может свидетельствовать об отставании темпов становления ферментативной системы у данной группы пациентов. Также необходимо учитывать, что Na/K-АТФ-аза имеет сайты связывания и регуляции ионами Ca и Mg, и её активность зависит от концентрации этих ионов [19].

Основная функция Mg-АТФ-азы (КФ 7.6.2.1) — АТФ-зависимое поддержание формы эритроцита — реализуется

посредством фосфорилирования отрицательно заряженных мембранных фосфолипидов и активного транспорта аминоксифосфолипидов с внешнего слоя плазматической мембраны на внутренний [20–21]. Значительное снижение активности Mg-АТФ-азы у детей с НЭК может свидетельствовать как о дефиците основных субстратов реакции (АТФ и Mg), так и о нарушении/недостаточности антиоксидантной системы, так как эндогенным ингибитором фермента могут выступать высокие концентрации окисленного глутатиона [22]. Кроме того, высокие концентрации свободного внутриклеточного Ca опосредованно активируют скрамблазу (белок, ответственный за двунаправленное трансмембранное движение фосфолипидов, приводящее к нарушению исходного асимметричного распределения фосфолипидов между внутренним и наружным листком мембраны) и инактивируют Mg-АТФ-азу, отвечающую за неравномерное распределение липидов в мембране эритроцита [23]. Известно, что снижение уровня Mg характерно для недоношенных новорождённых и развивается преимущественно вследствие гестационного дефицита Mg у матери. Это приводит к преждевременным родам и низкой массе тела новорождённого [24]. Следовательно, причиной выраженного снижения активности Mg-АТФ-азы у детей с НЭК не может являться только гипомagneмия, так как она характерна для всех недоношенных детей периода новорожденности.

Ca-АТФ-аза плазматической мембраны (plasma membrane calcium-transporting adenosine triphosphatase, PMCA; КФ 7.2.2.10) удаляет Ca за пределы клетки, и поддерживает внутриклеточный гомеостаз Ca. В эритроцитах кальциевый насос состоит только из двух изоформ — PMCA 1 и PMCA 4 [24]. Он отвечает исключительно за поддержание гомеостаза Ca. Кроме того, это единственный ионный насос, непосредственно стимулируемый кальмодулином. Повышенная активность Ca-АТФ-азы, наблюдаемая у детей с НЭК, может быть связана с повышением в эритроците свободного Ca, что наблюдалось ранее при механическом воздействии на клетку и повышенном уровне провоспалительных цитокинов [25]. Временное высвобождение Ca из внутриклеточных депо может способствовать дезоксигенации, усиливающей диссоциацию O₂ из гемоглобина [23], при этом постоянная активация PMCA приводит к быстрому истощению пула АТФ в клетке.

В целом, полученные результаты свидетельствуют о гипоксическом гипоэнергетическом состоянии, сопровождающимся повышением концентрации внутриклеточного Ca у недоношенных новорождённых с хирургическими стадиями НЭК.

Ограничения исследования

Исходя только из данных проведённого исследования, невозможно сделать однозначные выводы о том, является ли изменение активности АТФ-аз эритроцитов маркером текущего тяжёлого состояния детей с НЭК или выступает

одним из неблагоприятных условий, на фоне которых с большой вероятностью могут развиваться хирургические стадии заболевания. Для ответа на этот вопрос требуются дальнейшие проспективные динамические исследования этих биохимических маркеров у недоношенных новорождённых с момента рождения и до развития патологического процесса. Новые исследования позволяют определить возможности прогнозирования риска развития хирургического НЭК и исхода заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проведённом исследовании продемонстрированы статистически значимые изменения активности ферментов MAO-B (тромбоциты, кишечник) и АТФ-аз (эритроциты) у пациентов с НЭК II–III стадии. Показано, что активность MAO тромбоцитов отражает уровень активности этого же фермента в структурах тонкой и толстой кишки у детей с НЭК и может служить принципиально новым прогностическим маркером, отражающим незрелость организма на системном (головной мозг, почки, лёгкие, кишечник, тромбоциты) и локальном уровне (кишечник). Полученные данные перспективны с точки зрения разработки новых методов диагностики/прогноза НЭК новорождённых.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-10079, <https://rscf.ru/project/23-25-10079>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. П.К. Винель — сбор и обработка данных, лабораторный этап исследования, сбор и анализ литературных источников, написание текста и редактирование статьи; В.В. Царева — хирургическое лечение пациентов, обзор литературы, сбор и анализ литературных источников,

подготовка и написание текста статьи; П.Г. Бабоско — хирургическое лечение пациентов, написание и редактирование статьи; А.И. Синицкий — обработка данных, лабораторный этап исследования, сбор и анализ литературы, подготовка и написание статьи; А.С. Кожевников — курация, хирургическое лечение пациентов, подготовка и написание статьи; А.В. Грунин — курация, хирургическое лечение пациентов, подготовка и написание статьи. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

Этическая экспертиза. Протокол исследования был одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России (№ 8 от 15.09.2021).

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. The study was supported by the Russian Science Foundation grant N 23-25-10079, <https://rscf.ru/project/23-25-10079>.

Competing interests. The authors claim that there is no conflict of interest in the article.

Authors' contribution. All authors confirm compliance of their authorship with the international ICMJE criteria. P.K. Vinel — data collection and processing, laboratory stage of research, collection and analysis of literary sources, writing the text and editing the article; V.V. Tsareva — surgical treatment of patients, literature review, collection and analysis of literary sources, preparation and writing of the article; P.G. Baboshko — surgical treatment of patients, writing the text and editing the article; A.I. Sinitsky — data processing, laboratory stage of research, collection and analysis of literature, preparation and writing of the article; A.S. Kozhevnikov — supervision, surgical treatment of patients, preparation and writing of the article; A.V. Grunin — supervision, surgical treatment of patients, preparation and writing of the article. All authors made a significant contribution to the development of the concept, conduct of the study and preparation of the article, read and approved the final version before publication.

Ethics approval. The present study protocol was approved by the local Ethics Committee of the South-Ural State Medical University (N 8 by 15.09.2021).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Tan X., Zhou Y., Xu L., et al. The predictors of necrotizing enterocolitis in newborns with low birth weight: A retrospective analysis // *Medicine*. 2022. Vol. 101, N 7. P. e28789. doi: 10.1097/MD.00000000000028789
2. Vinel P.K., Tsareva V.V., Sinitskiy A.I., et al. Biomarkers of necrotizing enterocolitis through the prism of etiopathogenesis // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2023. Т. 18, № 2. С. 211–218. EDN: HEHMIA doi: 10.14300/mnnc.2023.18051
3. Gershon M.D., Sherman D.L., Pinter J.E. Type-specific localization of monoamine oxidase in the enteric nervous system: Relationship to 5-hydroxytryptamine, neuropeptides, and sympathetic nerves // *J Comp Neurol*. 1990. Vol. 301, N 2. P. 191–213. doi: 10.1002/cne.903010205
4. Nicotra A., Pierucci F., Parvez H., Senatori O. Monoamine oxidase expression during development and aging // *Neurotoxicology*. 2004. Vol. 25, N 1–2. P. 155–165. EDN: LNMWSN doi: 10.1016/S0161-813X(03)00095-0
5. Lewinsohn R., Glover V., Sandler M. Development of benzylamine oxidase and monoamine oxidase A and B in man // *Biochem Pharmacol*. 1980. Vol. 29, N 9. P. 1221–1230. doi: 10.1016/0006-2952(80)90278-6
6. Ramsay R.R., Albrecht A. Kinetics, mechanism, and inhibition of monoamine oxidase // *J Neural Transm (Vienna)*. 2018. Vol. 125, N 11. P. 1659–1683. EDN: YPBWYP doi: 10.1007/s00702-018-1861-9
7. Bond P.A., Cundall R.L. Properties of monoamine oxidase (MAO) in human blood platelets, plasma, lymphocytes and granulocytes // *Clinica Chimica Acta*. 1977. Vol. 80, N 2. P. 317–326. doi: 10.1016/0009-8981(77)90039-0
8. Shulhan J., Dicken B., Hartling L., Larsen B.M. Current knowledge of necrotizing enterocolitis in preterm infants and the impact of

different types of enteral nutrition products // *Adv Nutr.* 2017. Vol. 8, N 1. P. 80–91. doi: 10.3945/an.116.013193

9. Vinel P.K., Grobovoy S.I., Sinitskii A.I., Kolesnikov O.L. Modification of a spectrophotometric method for assessment of monoamine oxidase activity with 2,4-dinitrophenylhydrazine as a derivatizing reagent // *Anal Biochem.* 2021. N 629. P. 114294. doi: 10.1016/j.ab.2021.114294

10. Bartolommei G., Moncelli M.R., Tadini-Buoninsegni F. A method to measure hydrolytic activity of adenosine triphosphatases (ATPases) // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, N 3. P. e58615. doi: 10.1371/journal.pone.0058615

11. Roth J.A., Young J.G., Cohen D.J. Platelet monoamine oxidase activity in children and adolescents // *Life Sci.* 1976. Vol. 18, N 9. P. 919–924. doi: 10.1016/0024-3205(76)90409-4

12. Cawthon R.M., Pintar J.E., Haseltine F.P., Breakefield X.O. Differences in the structure of A and B forms of human monoamine oxidase // *J Neurochem.* 1981. Vol. 37, N 2. P. 363–372. doi: 10.1111/j.1471-4159.1981.tb00464.x

13. Sostek A.J., Sostek A.M., Murphy D.L., et al. Cord blood amine oxidase activities relate to arousal and motor functioning in human newborns // *Life Sci.* 1981. Vol. 28, N 22. P. 2561–2568. doi: 10.1016/0024-3205(81)90599-3

14. Jones J.B., Southgate J. Platelet monoamine oxidase activity in the human fetus // *Dev Med Child Neurol.* 1976. Vol. 18, N 5. P. 640–642. doi: 10.1111/j.1469-8749.1976.tb04209.x

15. Lewinsohn R., Sandler M. Monoamine-oxidizing enzymes in human pregnancy // *Clin Chim Acta.* 1982. Vol. 120, N 3. P. 301–312. doi: 10.1016/0009-8981(82)90371-0

16. Oreland L., Shaskan E.G. Monoamine oxidase activity as a biological marker // *Trends Pharmacol Sci.* 1983. N 4. P. 339–341. doi: 10.1016/0165-6147(83)90432-7

17. Stillwell W. An introduction to biological membranes: Composition, structure and function. 2 rev. Elsevier Science, 2016. 564 p.

18. Bistrizter T., Berkovitch M., Rappoport M.J., et al. Sodium potassium adenosine triphosphatase activity in preterm and term infants and its possible role in sodium homeostasis during maturation // *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 1999. Vol. 81, N 3. P. F184–F187. doi: 10.1136/fn.81.3.f184

19. Tian J., Xie Z.J. The Na-K-ATPase and calcium-signaling microdomains // *Physiology (Bethesda).* 2008. Vol. 23, N 4. P. 205–211. doi: 10.1152/physiol.00008.2008

20. Auland M.E., Morris M.B., Roufogalis B.D. Separation and characterization of two Mg(2+)-ATPase activities from the human erythrocyte membrane // *Arch Biochem Biophys.* 1994. Vol. 312, N 1. P. 272–277. doi: 10.1006/abbi.1994.1309

21. Beleznay Z., Zachowski A., Devaux P.F., Ott P. Characterization of the correlation between ATP-dependent aminophospholipid translocation and Mg2+-ATPase activity in red blood cell membranes // *Eur J Biochem.* 1997. Vol. 243, N 1-2. P. 58–65. EDN: FOZGWR doi: 10.1111/j.1432-1033.1997.58_1a.x

22. Nozadze E., Arutinova N., Tsakadze L., et al. Molecular mechanism of Mg-ATPase activity // *J Membr Biol.* 2015. Vol. 248, N 2. P. 295–300. EDN: HVUIII doi: 10.1007/s00232-014-9769-2

23. Bogdanova A., Makhro A., Wang J., et al. Calcium in red blood cells a perilous balance // *Int J Mol Sci.* 2013. Vol. 14, N 5. P. 9848–9872. EDN: RJSVQN doi: 10.3390/ijms14059848

24. Zylinska L., Gulczynska E., Kozaczuk A. Changes in erythrocyte glutathione and plasma membrane calcium pump in preterm newborns treated antenatally with MgSO4 // *Neonatology.* 2008. Vol. 94, N 4. P. 272–278. doi: 10.1159/000151646

25. Ogbodo U.C., Emeh J.K., Neboh E.E., et al. Estimation of intracellular magnesium concentrations and membrane atpase activities in the red blood cells of normal and sickle cell subjects in Enugu, Southeast Nigeria // *Int J Biol Med Res.* 2010. Vol. 1, N 4. P. 149–152.

REFERENCES

1. Tan X, Zhou Y, Xu L, et al. The predictors of necrotizing enterocolitis in newborns with low birth weight: A retrospective analysis. *Medicine.* 2022;101(7):e28789. doi: 10.1097/MD.00000000000028789
2. Vinel PK, Tsareva VV, Sinitskiy AI, et al. Biomarkers of necrotizing enterocolitis through the prism of etiopathogenesis. *Medical news of North Caucasus.* 2023;18(2):211–218. EDN: HEHMAI doi: 10.14300/mnnc.2023.18051
3. Gershon MD, Sherman DL, Pintar JE. Type-specific localization of monoamine oxidase in the enteric nervous system: Relationship to 5-hydroxytryptamine, neuropeptides, and sympathetic nerves. *J Comp Neurol.* 1990;301(2):191–213. doi: 10.1002/cne.903010205
4. Nicotra A, Pierucci F, Parvez H, Senatori O. Monoamine oxidase expression during development and aging. *Neurotoxicology.* 2004;25(1-2):155–165. EDN: LNMWSN doi: 10.1016/S0161-813X(03)00095-0
5. Lewinsohn R, Glover V, Sandler M. Development of benzylamine oxidase and monoamine oxidase A and B in man. *Biochem Pharmacol.* 1980;29(9):1221–1230. doi: 10.1016/0006-2952(80)90278-6
6. Ramsay RR, Albrecht A. Kinetics, mechanism, and inhibition of monoamine oxidase. *J Neural Transm (Vienna).* 2018;125(11):1659–1683. EDN: YPBWYP doi: 10.1007/s00702-018-1861-9
7. Bond PA, Cundall RL. Properties of monoamine oxidase (MAO) in human blood platelets, plasma, lymphocytes and granulocytes. *Clinica Chimica Acta.* 1977;80(2):317–326. doi: 10.1016/0009-8981(77)90039-0
8. Shulhan J, Dicken B, Hartling L, Larsen BM. Current knowledge of necrotizing enterocolitis in preterm infants and the impact of different types of enteral nutrition products. *Adv Nutr.* 2017;8(1):80–91. doi: 10.3945/an.116.013193
9. Vinel PK, Grobovoy SI, Sinitskii AI, Kolesnikov OL. Modification of a spectrophotometric method for assessment of monoamine oxidase activity with 2,4-dinitrophenylhydrazine as a derivatizing reagent. *Anal Biochem.* 2021;(629):114294. doi: 10.1016/j.ab.2021.114294
10. Bartolommei G, Moncelli MR, Tadini-Buoninsegni F. A method to measure hydrolytic activity of adenosine triphosphatases (ATPases). *PLoS One.* 2013;8(3):e58615. doi: 10.1371/journal.pone.0058615
11. Roth JA, Young JG, Cohen DJ. Platelet monoamine oxidase activity in children and adolescents. *Life Sci.* 1976;18(9):919–924. doi: 10.1016/0024-3205(76)90409-4
12. Cawthon RM, Pintar JE, Haseltine FP, Breakefield XO. Differences in the structure of A and B forms of human monoamine oxidase. *J Neurochem.* 1981;37(2):363–372. doi: 10.1111/j.1471-4159.1981.tb00464.x
13. Sostek AJ, Sostek AM, Murphy DL, et al. Cord blood amine oxidase activities relate to arousal and motor functioning in human newborns. *Life Sci.* 1981;28(22):2561–2568. doi: 10.1016/0024-3205(81)90599-3
14. Jones JB, Southgate J. Platelet monoamine oxidase activity in the human fetus. *Dev Med Child Neurol.* 1976;18(5):640–642. doi: 10.1111/j.1469-8749.1976.tb04209.x

15. Lewinsohn R, Sandler M. Monoamine-oxidizing enzymes in human pregnancy. *Clin Chim Acta*. 1982;120(3):301–312. doi: 10.1016/0009-8981(82)90371-0
16. Oreland L, Shaskan EG. Monoamine oxidase activity as a biological marker. *Trends Pharmacol Sci*. 1983;(4):339–341. doi: 10.1016/0165-6147(83)90432-7
17. Stillwell W. *An introduction to biological membranes: Composition, structure and function*. 2 rev ed. Elsevier Science; 2016. 564 p.
18. Bistrizer T, Berkovitch M, Rappoport MJ, et al. Sodium potassium adenosine triphosphatase activity in preterm and term infants and its possible role in sodium homeostasis during maturation. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 1999;81(3):F184–F187. doi: 10.1136/fn.81.3.f184
19. Tian J, Xie ZJ. The Na-K-ATPase and calcium-signaling microdomains. *Physiology (Bethesda)*. 2008;23(4):205–211. doi: 10.1152/physiol.00008.2008
20. Auland ME, Morris MB, Roufogalis BD. Separation and characterization of two Mg²⁺-ATPase activities from the human erythrocyte membrane. *Arch Biochem Biophys*. 1994;312(1):272–277. doi: 10.1006/abbi.1994.1309
21. Beleznay Z, Zachowski A, Devaux PF, Ott P. Characterization of the correlation between ATP-dependent aminophospholipid translocation and Mg(2+)-ATPase activity in red blood cell membranes. *Eur J Biochem*. 1997;243(1-2):58–65. EDN: FOZGWR doi: 10.1111/j.1432-1033.1997.58_1a.x
22. Nozadze E, Arutinova N, Tsakadze L, et al. Molecular mechanism of Mg-ATPase activity. *J Membr Biol*. 2015;248(2):295–300. EDN: HVUUII doi: 10.1007/s00232-014-9769-2
23. Bogdanova A, Makhro A, Wang J, et al. Calcium in red blood cells a perilous balance. *Int J Mol Sci*. 2013;14(5):9848–9872. EDN: RJSVQN doi: 10.3390/ijms14059848
24. Zylinska L, Gulczynska E, Kozaczuk A. Changes in erythrocyte glutathione and plasma membrane calcium pump in preterm newborns treated antenatally with MgSO₄. *Neonatology*. 2008;94(4):272–278. doi: 10.1159/000151646
25. Ogbodo UC, Emeh JK, Neboh EE, et al. Estimation of intracellular magnesium concentrations and membrane atpase activities in the red blood cells of normal and sickle cell subjects in Enugu, Southeast Nigeria. *Int J Biol Med Res*. 2010;1(4):149–152.

ОБ АВТОРАХ

*** Винель Полина Константиновна;**

адрес: Россия, 454092, Челябинск, ул. Воровского, д. 64;

ORCID: 0000-0002-3745-3690;

eLibrary SPIN: 6298-8131;

e-mail: vinelpolina@icloud.com

Царева Валентина Викторовна, канд. мед. наук;

ORCID: 0000-0002-6695-7388;

eLibrary SPIN: 7966-9068;

e-mail: semenovatsareva@mail.ru

Бабошко Павел Григорьевич;

ORCID: 0009-0009-2627-0459;

e-mail: 9043060081@mail.ru

Синицкий Антон Иванович, д-р мед. наук, доцент;

ORCID: 0000-0001-5687-3976;

eLibrary SPIN: 3681-1816;

e-mail: sinitskiyai@yandex.ru

Кожевников Артем Сергеевич;

ORCID: 0009-0008-5400-3043;

eLibrary SPIN: 9614-1388;

e-mail: vk_523@mail.ru

Грунин Александр Васильевич;

ORCID: 0009-0007-9327-7779;

e-mail: sasha_grunin@mail.ru

AUTHORS' INFO

*** Polina K. Vinel, MD;**

address: 64 Vorovskogo street, 454092 Chelyabinsk, Russia;

ORCID: 0000-0002-3745-3690;

eLibrary SPIN: 6298-8131;

e-mail: vinelpolina@icloud.com

Valentina V. Tsareva, MD, Cand. Sci. (Medicine);

ORCID: 0000-0002-6695-7388;

eLibrary SPIN: 7966-9068;

e-mail: semenovatsareva@mail.ru

Pavel G. Baboshko;

ORCID: 0009-0009-2627-0459;

e-mail: 9043060081@mail.ru

Anton I. Sinitskii, MD, Dr. Sci. (Medicine), Associate Professor;

ORCID: 0000-0001-5687-3976;

eLibrary SPIN: 3681-1816;

e-mail: sinitskiyai@yandex.ru

Artem S. Kozhevnikov, MD;

ORCID: 0009-0008-5400-3043;

eLibrary SPIN: 9614-1388;

e-mail: vk_523@mail.ru

Alexandr V. Grunin, MD;

ORCID: 0009-0007-9327-7779;

e-mail: sasha_grunin@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author