

О.Є. Абатуров¹, А.О. Товарницька²

Фактор транскрипції T-bet — діагностичний маркер розвитку некротизуючого ентероколіту в недоношених новонароджених

¹Дніпровський державний медичний університет, Україна

²ТОВ «Дніпровський медичний інститут традиційної і нетрадиційної медицини», Україна

Modern Pediatrics. Ukraine. (2022). 8(128): 6-11. doi 10.15574/SP.2022.128.6

For citation: Abaturov OE, Tovarnytska AO. (2022). Transcription factor T-bet is a diagnostic marker for necrotizing enterocolitis development in premature newborns. Modern Pediatrics. Ukraine. 8(128): 6-11. doi 10.15574/SP.2022.128.6.

Некротизуючий ентероколіт (НЕК) — тяжке гастроінтестинальне захворювання, що уражає переважно недоношених немовлят. Неспецифічність клінічної картини та високий відсоток ускладнень обумовлюють необхідність ранньої діагностики та профілактики захворювання.

Мета — встановити зв'язок між рівнем експресії T-bet у клітинах букальної слизової оболонки, розвитком НЕК та способом вигодовування в недоношених новонароджених немовлят.

Матеріали та методи. Обстежено 74 новонароджених, які проходили лікування в неонатальних відділеннях. Виділено три групи порівняння: 1-шу становили 32 дитини, народжені до 37 тижнів гестації, які перебували на грудному вигодовуванні (ГВ); 2-гу — 30 недоношених новонароджених на штучному вигодовуванні (ШВ); контрольну — 12 доношених новонароджених на ГВ. Визначено рівень експресії гена фактора транскрипції T-bet у клітинах зіскрібка букальної слизової оболонки новонароджених. Для статистичного аналізу розраховано нормалізовані рівні експресії T-bet у клітинах слизових оболонок немовлят 1 і 2-ї груп дослідження щодо групи контролю, де рівень експресії визначених факторів прийнято за 1 у.о.

Результати. Медіана гестаційного віку дітей 1-ї групи становила 33 (31; 34) тижні; 2-ї групи — 32,5 (32; 35) тижня; порівняно вищою вона була в групі контролю ($p < 0,001$) — 40 (39; 41) тижнів. Розвиток НЕК достовірно частіше спостерігався в недоношених дітей на ШВ, ніж на ГВ, ($p < 0,05$) — відповідно 30,0±8,4% проти 9,4±5,2%. Експресія T-bet у клітинах зіскрібка букальної слизової оболонки була вищою в недоношених дітей, найвищий рівень відмічався у 2-ї групі — 2,4 (1,98; 3,84) у.о. проти 1,48 (1,13; 2,22) у.о. в 1-ї групі. Доведено прямий зв'язок між ШВ і рівнем T-bet ($r = 0,370$; $p < 0,004$). Попарне порівняння виявило вищий рівень T-bet у дітей з НЕК ($p = 0,002$): 2,36 (1,94; 3,17) у.о. проти 1,74 (1,01; 3,27) у.о. без ознак НЕК. Виявлено прямий зв'язок між рівнем T-bet і розвитком НЕК ($r = 0,271$; $p = 0,021$).

Висновки. У новонароджених із клінічними ознаками НЕК підвищується рівень експресії T-bet у клітинах букальної слизової оболонки. Рівень експресії T-bet у клітинах букальної слизової оболонки може виступати маркером розвитку запального процесу в кишечнику немовлят. У недоношених новонароджених експресія T-bet у клітинах слизових оболонок вища, ніж у доношених, що відображає схильність до розвитку НЕК. Показано, що в недоношених новонароджених на ШВ рівень експресії T-bet ще вищий, а отже, ШВ може розглядатися як фактор ризику розвитку НЕК у недоношених немовлят.

Дослідження виконано відповідно до принципів Гельсінської декларації. Протокол дослідження ухвалено Локальним етичним комітетом зазначеної в роботі установи. На проведення досліджень отримано інформовану згоду батьків дітей.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Ключові слова: T-bet, недоношені новонароджені, некротизуючий ентероколіт, НЕК, штучне вигодовування.

Transcription factor T-bet is a diagnostic marker for necrotizing enterocolitis development in premature newborns

O.E. Abaturov¹, A.O. Tovarnytska²

¹Dnipro State Medical University, Ukraine

²LLC «Dnipro Medical Institute of Traditional and Non-traditional Medicine», Ukraine

Necrotizing enterocolitis (NEC) is a severe gastrointestinal disease that mainly affects preterm infants. The non-specificity of the clinical picture and the high percentage of complications determine the need for early diagnosis and prevention of the disease.

Purpose — to establish a relationship between the T-bet expression level in the cells of the buccal mucosa, the development of HEC and the method of feeding in premature newborn infants.

Materials and methods. We examined 74 newborns, who were treated in neonatal departments. We selected three groups for comparison: the Group 1 consisted of 32 newborns up to 37 weeks of gestation on breastfeeding (BF); the Group 2 — 30 preterm newborns on artificial feeding (AF); the control group — 12 full-term newborns on BF. We determined the expression level of T-bet transcription gene factor in the cells of the buccal mucosa scrapings of the newborns. Thereafter, we have calculated the T-bet normalized expression levels in the cells of the mucous membranes of infants of the Group 1 and the Group 2 in relation to the control group, where the expression level of the specified factors was taken as 1 c.u.

Results. The gestational age median of the Group 1 children was 33 (31; 34) weeks; the Group 2 — 32.5 (32; 35) weeks; and it was comparatively higher versus in the Group 1 ($p < 0.001$) — 40 (39; 41) weeks. NEC has significantly more often developed in premature children on AF than on BF ($p < 0.05$) — 30.0±8.4% versus 9.4±5.2%. The T-bet expression in the cells of the buccal mucosa scrapings was higher in preterm children, and the highest level was in the Group 2 — 2.4 (1.98; 3.84) c.u. versus 1.48 (1.13; 2.22) c.u. in the Group 1. We have proved a direct relationship between AF and T-bet level ($r = 0.370$; $p < 0.004$). Pairwise comparison revealed a higher level of T-bet in children with NEC ($p = 0.002$): 2.36 (1.94; 3.17) c.u. versus 1.74 (1.01; 3.27) c.u. without signs of NEC. We found a direct correlation between the T-bet level and the development of HEC ($r = 0.271$; $p = 0.021$).

Conclusions. The T-bet expression level in the cells of the buccal mucosa increases in newborns with the appearance of the clinical signs of NEC. The level of T-bet expression in the buccal mucosa cells can be a marker of the inflammatory process development in intestine of infants. The expression of T-bet in the buccal mucosa cells of newborns with clinical signs of NEC is higher than in full-term newborns that reflects the tendency to NEC development. We have demonstrated that the T-bet expression level is higher in preterm neonates on AF. Therefore, AF can be considered as a risk factor for the development of NEC in preterm infants.

The research was carried out in accordance with the principles of the Helsinki Declaration. The study protocol was approved by the Local Ethics Committee of all participating institutions. The informed consent of the patient was obtained for conducting the studies.

No conflict of interests was declared by the authors.

Keywords: T-bet, preterm infants, premature, necrotizing enterocolitis, NEC, artificial feeding.

Вступ

Некротизуючий ентероколіт (НЕК) — тяжке захворювання шлунково-кишкового тракту, що уражує переважно недоношених новонароджених [2,3,23]. Захворюваність та смертність від НЕК зворотно пропорційні до гестаційного віку новонароджених [2]. НЕК уражує до 10% немовлят із масою тіла до 1500 г.

Початкові ознаки НЕК неспецифічні: температурна нестабільність, апное, летаргія, брадикардія, гіпотензія, порушення рівня глікемії, які легко сплутати з іншою патологією [24]. Найчастішим раннім симптомом НЕК є раптове порушення харчової толерантності [8,19]. Гастроінтестинальні ознаки проявляються зниженням інтенсивності кишкових шумів, здуттям живота, наявністю крові в калових масах, чутливістю живота при пальпації, блюванням, часто з жовчю, діареєю, зворотним пасажем жовчі по назогастральному зонду [14,22]. НЕК асоціюється з низкою гастроінтестинальних розладів у майбутньому (синдромом «короткої» кишки, холестазом, порушенням моторики шлунково-кишкового тракту). Доведено, що НЕК підвищує ризик затримки психоневрологічного розвитку, внутрішньошлункових крововиливів, перивентрикулярної лейкомаляції. У дітей після НЕК частіше спостерігається затримка росту і фізичного розвитку [2,4]. Смертність немовлят із низькою масою тіла становить до 30%. Цей показник не змінюється протягом останніх 20 років [1,6,20].

Сучасні напрями лікування НЕК зводяться до «відпочинку кишечника», антибактеріальної, інфузійної та симптоматичної терапії, як наприклад, стабілізація кров'яного тиску [14,21]. Протягом останніх років не було значних змін у попередженні та лікуванні НЕК, хоча спостерігається підвищення виживання екстремально недоношених дітей, серед яких ця патологія зустрічається частіше [23].

У розвитку запального процесу особливу роль відіграє фактор транскрипції T-bet (T-box binding) — специфічний фактор транскрипції сімейства T-box імунних клітин. Фактор транскрипції T-bet спочатку був описаний як ключовий молекулярний фактор, що визначає формування наївних T-лімфоцитів у CD4⁺Th₁-клітини. Фактор транскрипції T-bet також індукуює продукцію IFN- γ і керує програмою міграції Th₁-клітин, регулюючи експресію

хемокінів і хемокінових рецепторів [16]. Наступні дослідження показали, що фактор транскрипції T-bet бере участь у диференціюванні різних ефекторних клітин і клітин пам'яті імунної системи. Крім Th₁-клітин, фактор транскрипції T-bet необхідний для розвитку або диференціювання регуляторних T- (Treg-клітин), фолікулярних Th-, Th₁₇-, CD8⁺T-, B-клітин і вроджених лімфоїдних клітин (ILC). Отже, фактор транскрипції T-bet регулює програми транскрипції у відповідь на запальні сигнали типу 1 від рецепторів, стимульованих антигенами, прозапальними цитокінами. Вважають, що експресія фактора транскрипції T-bet необхідна для ефективного знищення патогенів кишечника та підтримки імунітету [11–13,15,17].

Особливу увагу останніми роками приділяють ролі T-bet в імунному захисті слизових оболонок травного тракту [6,8,17].

На сьогодні бракує досліджень, які б відображали зв'язок експресії T-bet із видом вигодовування та розвитком НЕК у недоношених дітей.

Мета дослідження — встановити зв'язок рівня експресії T-bet у клітинах букальної слизової оболонки зі способом вигодовування та розвитком НЕК у недоношених новонароджених дітей.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи «Прогнозування розвитку дитячих захворювань, асоційованих з цивілізацією» (№ держреєстрації 0120U101324) кафедри педіатрії 1 та медичної генетики Дніпровського державного медичного університету. Дослідження виконано згідно із сучасними науковими стандартами, передбачено заходи щодо забезпечення здоров'я пацієнтові, дотримання його прав, людської гідності та морально-етичних норм відповідно до Гельсінської декларації, Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Загальної декларації про біоетику та права людини ЮНЕСКО, відповідних законодавчих актів України (Конституції України (ст. 3, 21, 24, 28, 32), Основ законодавства України про охорону здоров'я (ст. 43.1, 44.1), Закону України «Про лікарські засоби» (ст. 7, 8)).

Дослідження виконано на базі відділення для постінтенсивного догляду та виходжування новонароджених Комунального підприємства «Дніпропетровський обласний перинатальний центр зі стаціонаром» Дніпропетровської обласної ради» та відділенні для недоношених

новонароджених Комунального некомерційного підприємства «Міська багатопрофільна клінічна лікарня матері та дитини імені проф. М.Ф. Руднева» Дніпровської міської ради» за 2021–2022 рр.

Обстежено 74 новонароджені дитини. *Критерії залучення:* виключно грудне (ГВ) або виключно штучне вигодовування (ШВ) від народження, вік на момент обстеження до 28 діб. *Критерії вилучення:* тяжкий та клінічно нестабільний стан новонародженого; змішане харчування або зміна харчування в анамнезі; вік немовляти від 28 діб; наявність запальних захворювань матері, що потребували медикаментозного втручання; наявність запальних ознак запалення слизової оболонки ротової порожнини, носо- і ротоглотки немовлят; змішане харчування дитини.

Відібрано три групи дітей:

– 1-ша група – 32 дитини, які народилися передчасно і перебували виключно на ГВ;

– 2-га група – 30 дітей, які народилися передчасно і годувалися виключно адаптованими сумішами, перебували на ШВ;

– контрольна група – 12 доношених новонароджених дітей на виключно ГВ.

Причиною початку ШВ у всіх випадках була гіпогалактія матері.

Молекулярно-генетичні методи дослідження – визначення експресії гена фактора транскрипції T-bet у зіскрібку букальної слизової оболонки новонароджених методом полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією в режимі реального часу. Для статистичного аналізу розраховано нормалізовані рівні експресії T-bet слизових оболонок немовлят 1 та 2-ї груп дослідження щодо групи контролю, де рівень експресії визначених факторів прийнято за 1 у.о.

Молекулярно-генетичні методи дослідження проведено в сертифікованій лабораторії «PCR lab Interdepartmental Training and Research Laboratory (ITRL)» of Ternopil National Medical University. Head of Laboratory Alexandr Kamyshny, PhD, MD, Professor Department of Microbiology, Virology and Immunology Ternopil National Medical University

Статистичну обробку результатів здійснено за допомогою програмного продукту «STATISTICA 6.1» (StatSoft Inc., серійний № AGAR909E415822FA). Аналіз отриманих даних з оцінкою статистичної вірогідності відмінностей проведено за допомогою параме-

тричних і непараметричних методів статистики. За умов нормального розподілу кількісних даних (критерій Шапіро–Уїлка) використано середню арифметичну (M), її стандартну похибку ($\pm m$), за аномального розподілу – медіану (Me) з міжквартильним розмахом (25%; 75%), непараметричний аналіз Краскела–Уолліса з попарним порівнянням за критерієм Данна та Манна–Уїтні. Для характеристики і порівняння відносних величин використано показник частоти з похибкою ($F \pm m\%$), критерій згоди Пірсона (χ^2) і двосторонній точний критерій Фішера (ТКФ). Оцінку зв'язків між різними факторами проведено за коефіцієнтом рангової кореляції Спірмена (r). Критичний рівень статистичної значущості при перевірці усіх нульових гіпотез прийнято рівним 0,05 (5%).

Результати дослідження та їх обговорення

Новонароджені діти основних та контрольної груп суттєво різнилися за гестаційним віком та антропометричними показниками ($p < 0,001$). Медіана гестаційного віку дітей 1-ї групи становила 33 (31; 34) тижні, 2-ї групи – 32,5 (32; 35) тижня, тоді як у контрольній групі – 40 (39; 41) тижнів. Також відрізнявся вік немовлят на момент забору матеріалу та термін перебування пацієнтів у стаціонарі. Середній вік доношених дітей на момент забору матеріалу був достовірно меншим, ніж у дітей 1 і 2-ї груп ($p < 0,05$) – 6,5 (5,5; 7,0) доби проти 9,0 (6,5; 13,5) доби в 1-й групі і 11,5 (7,0; 16,0) доби у 2-й групі, що можна пояснити швидшою адаптацією та стабільним станом дітей контрольної групи. Відмінностей між способами розродження в групах порівняння не було ($p > 0,05$).

У групі дітей на ШВ початок ентерального харчування був пізнішим, ніж у 1-й та контрольній групах, ($p = 0,001$) – 1,0 (1,0; 3,0) доби проти 1,0 (1,0; 1,0) доби в 1-й і контрольній групах; різниці між 1-ю і контрольною групами за цим показником не було ($p = 0,132$). Повне парентеральне харчування застосовувалося у $25,8 \pm 5,56\%$ недоношених дітей. Серед дітей з НЕК ентеральну паузу понад 1 добу мали $75 \pm 12,5\%$ (9 дітей). Розвиток НЕК достовірно частіше спостерігався в недоношених дітей на ШВ, ніж на ГВ, ($p < 0,05$) – $30,0 \pm 8,4\%$ проти $9,4 \pm 5,2\%$.

Експресія T-bet у клітинах зіскрібка букальної слизової оболонки була вищою в недоношених дітей, а найвищий рівень відмічався у 2-й групі – 2,4 (1,98; 3,84) у.о. проти 1,48 (1,13; 2,22) у.о.

в 1-й групі. Нами доведено прямий зв'язок між ШВ і рівнем T-bet ($r=0,370$; $p<0,004$) (рис. 1).

Попарне порівняння виявило вищий рівень T-bet у дітей з НЕК ($p=0,002$) – 2,36 (1,94; 3,17) проти 1,74 (1,01; 3,27). Доведено прямий зв'язок між рівнем T-bet і розвитком НЕК ($r=0,271$; $p=0,021$), (рис. 2).

Некротизуючий ентероколіт – одна з провідних причин смертності немовлят і найчастіша гастроінтестинальна патологія в неонатальних відділеннях інтенсивного догляду. Незважаючи на значні досягнення в медичній допомозі, рівні захворюваності й смертності від НЕК не змінилися. Це можна пояснити мультифакторіальністю хвороби та недостатністю надійних методів ранньої діагностики [10,19].

Факторами ризику розвитку НЕК є малий гестаційний вік, низька маса тіла, хоріоамніоніт, респіраторна підтримка, генетична схильність, незрілість кишечника, зміни мікровакулярного тону, колонізація кишечника патогенною мікрофлорою, застосування фармакологічних препаратів [20].

Результати наших досліджень відображають підвищення частоти розвитку НЕК у дітей на ШВ, що співпадає з раніше опублікованими даними [9]. За нашими даними, ШВ можна вважати фактором ризику розвитку НЕК.

Початок ентерального годування був пізнішим серед дітей, які розвивали клініку НЕК. Наявність повного парентерального харчування відображала стратегію «розвантаження» і «відпочинку кишечника» в лікуванні. Ентеральна пауза частіше спостерігалась у дітей, які в майбутньому отримували суміш, що можна пов'язати з проблемами підтримки лактації.

Дендритні клітини (DC) ILC, що експресують T-bet, взаємодіють у стінці тонкого кишечника для підтримання цілісності кишкового епітелію. Фактор T-bet у DC пригнічує рівень експресії TNF, у ILC – пригнічує експресію IL-17 і посилює продукцію IFN- γ . Також T-bet сприяє дозріванню T γ 1-клітин, які продукують IFN- γ , а також активації мікробіцидних механізмів макрофагів [17]. У разі порушення епітеліального бар'єра кишечника Treg-клітини перетворюються на T γ 1-клітини з активною експресією фактора транскрипції T-bet та експресією IFN- γ . Рівень експресії T-bet у Treg-клітинах підвищується за перших ознак запалення слизових оболонок кишечника. Попередні дослідження виявили вищу експресію T-bet та IFN- γ в T γ 1-клітинах слизової обо-

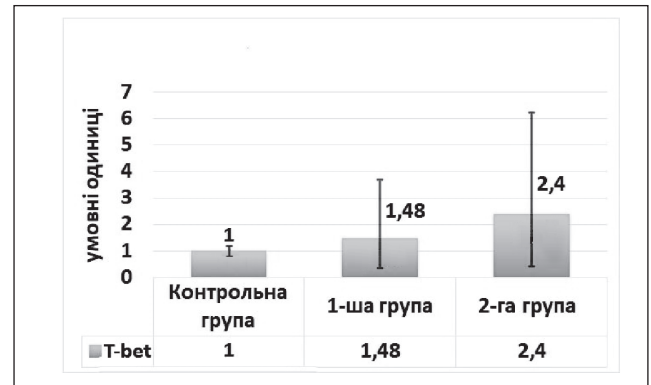


Рис. 1. Експресія T-bet у групах порівняння

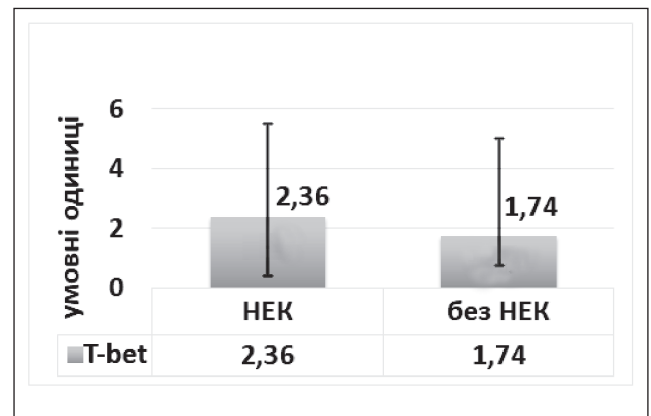


Рис. 2. Порівняння рівня експресії T-bet у дітей з і без ознак некротизуючого ентероколіту

лонки кишечника у хворих на запальні захворювання кишечника. За експериментального нокауту гена T-bet у мишей ознаки коліту були менш вираженими, спостерігалось порушення Th γ 1-опосередкованої імунної відповіді [8]. Надлишок IFN- γ супроводжується порушенням цілісності, регенерації епітелію кишечника та розвитком ознак запалення. Водночас дефіцит IFN- γ попереджає пошкодження тканини клубової кишки, асоційованого з НЕК в експериментальних тварин [5]. Також у разі клінічних проявів НЕК спостерігається майже п'ятикратне підвищення рівня представництва прозапальних NKp46 $^{-}$ ROR γ t $^{+}$ T-bet $^{+}$ ILC3 у зниженні кількості протекторних NKp46 $^{+}$ ROR γ t $^{+}$ ILC3. Експансія прозапальних NKp46 $^{-}$ ROR γ t $^{+}$ T-bet $^{+}$ ILC3 супроводжується збільшенням продукції IFN- γ і TNF, які визначають активність запального процесу слизової оболонки кишечника при НЕК [6]. На нашу думку, грудне молоко матері має інгібуючий вплив на експресію T-bet, що зумовлює зниження ризику розвитку НЕК у недоношених дітей. Відсутність впливу грудного молока, що супроводжується активацією експресії T-bet, призводить до посилення диференціації наївних T-клітин у Th γ 1-клітини,

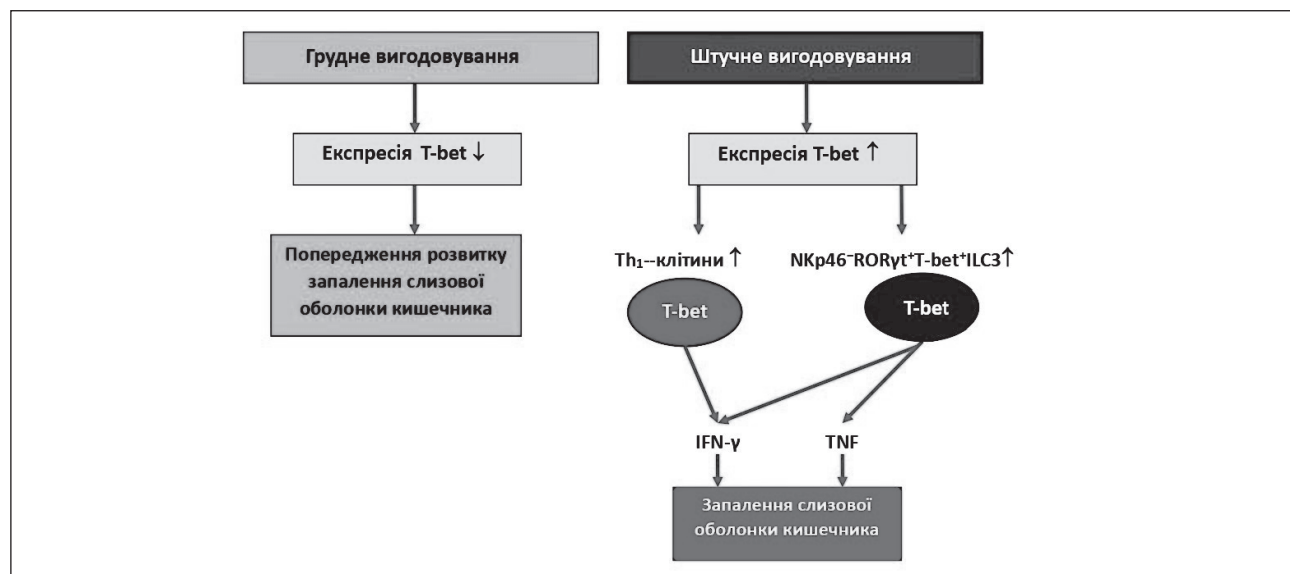


Рис. 3. Протекторний вплив грудного вигодовування на розвиток запального процесу слизової оболонки кишечника в разі розвитку некротизуючого ентероколіту в недоношених новонароджених дітей

а також до збільшення представництва прозапальних $\text{NKp46}^- \text{ROR}\gamma\text{t}^+ \text{T-bet}^+ \text{ILC3}$ у слизовій оболонці кишечника. Збільшення кількості Th1 -клітин та $\text{NKp46}^- \text{ROR}\gamma\text{t}^+ \text{T-bet}^+ \text{ILC3}$, як основних продуцентів прозапальних цитокінів $\text{IFN-}\gamma$ і TNF , спричиняє розвиток запалення слизової оболонки кишечника в недоношених новонароджених дітей (рис. 3).

Результати наших досліджень вказують на підвищення експресії T-bet у клітинах зіскрібка букальної слизової оболонки новонароджених, які мають клінічні ознаки НЕК. Неінвазивність такого методу діагностики є його невід'ємною перевагою, що дасть змогу в майбутньому впровадити його в практику раннього виявлення запальних змін кишечника. Нами виявлено відносно вищий рівень експресії T-bet у недоношених дітей на ШВ, що, імовірно, є маркером вищого ризику розвитку симптомів НЕК у цієї групи дітей.

Висновки

У недоношених новонароджених із клінічними ознаками НЕК спостерігається вищий рівень

експресії T-bet у клітинах зіскрібка букальної слизової оболонки, що може бути діагностичним маркером розвитку запального процесу в кишечнику.

У недоношених новонароджених відмічається вищий рівень експресії T-bet , що відображає схильність цієї групи немовлят до розвитку НЕК.

У недоношених новонароджених на ШВ спостерігається більш виражене порівняно з недоношеними на ГВ підвищення експресії T-bet . Серед дітей на ШВ частіше виявляються клінічні ознаки НЕК. Штучне вигодовування може розглядатися як фактор ризику розвитку НЕК.

Перспективи подальших досліджень полягають у продовженні вивчення якісних і кількісних змін T-bet у слизових оболонках у разі розвитку запалення кишечника; можливого зовнішнього епігенетичного впливу на рівень факторів транскрипції слизової оболонки для можливостей моделювання, контролю й профілактики розвитку НЕК.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

REFERENCES/ЛІТЕРАТУРА

1. Alganabi M, Lee C, Bindi E et al. (2019, Jan 25). Recent advances in understanding necrotizing enterocolitis. *F1000Res*. 8: F1000 Faculty Rev-107. doi: 10.12688/f1000research.17228.1. PMID: 30740215; PMCID: PMC6348433.
2. Bazacliu C, Neu J. (2019). Necrotizing Enterocolitis: Long Term Complications. *Curr Pediatr Rev*. 15 (2): 115–124. doi: 10.2174/1573396315666190312093119. PMID: 30864508.
3. Bellodas SJ, Kadrofske M. (2019, Mar). Necrotizing enterocolitis. *Neurogastroenterol Motil*. 31 (3): e13569. doi: 10.1111/nmo.13569. PMID: 30793842.
4. Berken JA, Chang J. (2022). Neurologic Consequences of Neonatal Necrotizing Enterocolitis. *Dev Neurosci*. 44 (4–5): 295–308. doi: 10.1159/000525378. Epub 2022 Jun 13. PMID: 35697005.
5. Cho SX, Berger PJ, Nold-Petry CA, Nold MF. (2016, Jun 24). The immunological landscape in necrotizing enterocolitis. *Expert Rev Mol Med*. 18: e12. doi: 10.1017/erm.2016.13. PMID: 27341512; PMCID: PMC5001507.
6. Cho SX, Rudloff I, Lao JC et al. (2020, Nov 13). Characterization of the pathoimmunology of necrotizing enterocolitis reveals novel therapeutic opportunities. *Nat Commun*. 11 (1): 5794. doi: 10.1038/s41467-020-19400-w. PMID: 33188181; PMCID: PMC7666196.
7. Cobb BA, Carlo WA, Ambalavanan N. (2004, Jan). Gastric residuals and their relationship to necrotizing enterocolitis in

- very low birth weight infants. *Pediatrics*. 113 (1 Pt 1): 50–53. doi: 10.1542/peds.113.1.50. PMID: 14702446.
8. Di Giovangiulio M, Rizzo A, Franzè E, Caprioli F, Facciotti F, Onali S et al. (2019, Sep 11). T-bet Expression in Regulatory T Cells Is Required to Initiate Th1-Mediated Colitis. *Front Immunol*. 10: 2158. doi: 10.3389/fimmu.2019.02158. PMID: 31572375; PMCID: PMC6749075.
 9. Gregory KE. (2008, Jul–Aug). Clinical predictors of necrotizing enterocolitis in premature infants. *Nurs Res*. 57 (4): 260–270. doi: 10.1097/01.NNR.0000313488.72035.a9. PMID: 18641495.
 10. Gunasekaran A, Devette C, Levin S, Chaaban H. (2022, Mar). Biomarkers of Necrotizing Enterocolitis: The Search Continues. *Clin Perinatol*. 49 (1): 181–194. doi: 10.1016/j.clp.2021.11.011. Epub 2022 Jan 21. PMID: 35210000.
 11. Huang C, Bi J. (2021, Oct 5). Expression Regulation and Function of T-Bet in NK Cells. *Front Immunol*. 12: 761920. doi: 10.3389/fimmu.2021.761920. PMID: 34675939; PMCID: PMC8524037.
 12. Kachler K, Holzinger C, Trufa DI, Sirbu H, Finotto S. (2018, Apr 25). The role of Foxp3 and T-bet co-expressing Treg cells in lung carcinoma. *Oncoimmunology*. 7 (8): e1456612. doi: 10.1080/2162402X.2018.1456612. PMID: 30221050; PMCID: PMC6136856.
 13. Kallies A, Good–Jacobson KL. (2017, Apr). Transcription Factor T-bet Orchestrates Lineage Development and Function in the Immune System. *Trends Immunol*. 38 (4): 287–297. doi: 10.1016/j.it.2017.02.003. Epub 2017 Mar 7. PMID: 28279590.
 14. Kim JH. (2022, Oct). Neonatal necrotizing enterocolitis: Clinical features and diagnosis. *UpToDate®*. URL: https://www.uptodate.com/contents/neonatal-necrotizing-enterocolitis-clinical-features-and-diagnosis/print?search=necrotizing%20enterocolitis&source=search_result&selectedTitle=2~150&usage_type=default&display_rank=2.
 15. Knox JJ, Myles A, Cancro MP. (2019, Mar). T-bet+ memory B cells: Generation, function, and fate. *Immunol Rev*. 288 (1): 149–160. doi: 10.1111/imr.12736. PMID: 30874358; PMCID: PMC6626622.
 16. Lazarevic V, Glimcher LH. (2011, Jun 20). T-bet in disease. *Nat Immunol*. 12 (7): 597–606. doi: 10.1038/ni.2059. PMID: 21685955; PMCID: PMC6290474.
 17. Lazarevic V, Glimcher LH, Lord GM. (2013, Nov). T-bet: a bridge between innate and adaptive immunity. *Nat Rev Immunol*. 13 (11): 777–789. doi: 10.1038/nri3536. Epub 2013 Oct 11. PMID: 24113868; PMCID: PMC6290922.
 18. Li YF, Lin HC, Torrazza RM et al. (2014). Gastric Residual Evaluation in Preterm Neonates: A Useful Monitoring Technique or a Hindrance? *Pediatrics & Neonatology*. 55 (5): 335–340. doi: 10.1016/j.pedneo.2014.02.008.
 19. Managlia E, Yan X, De Plaen IG. (2022, Jan–Mar). Intestinal Epithelial Barrier Function and Necrotizing Enterocolitis. *Newborn (Clarksville)*. 1 (1): 32–43. doi: 10.5005/jp-journals-11002-0003. Epub 2022 Mar 31. PMID: 35846894; PMCID: PMC9286028.
 20. Meister AL, Doheny KK, Travagli RA. (2020, Jan). Necrotizing enterocolitis: It's not all in the gut. *Exp Biol Med (Maywood)*. 245 (2): 85–95. doi: 10.1177/1535370219891971. Epub 2019 Dec 6. PMID: 31810384; PMCID: PMC7016421.
 21. Ministry of Health of Ukraine. (2022). Necrotizing Enterocolitis in Premature Children. Evidence-Based Guideline. [Міністерство охорони здоров'я України. (2022). Некротизуючий ентероколіт у передчасно народжених дітей. Клінічна настанова, заснована на доказах]. URL: https://www.dec.gov.ua/wp-content/uploads/2022/01/2022_182_kn_nekreter.pdf
 22. Müller MJ, Paul T, Seeliger S. (2016, Sep 16). Necrotizing enterocolitis in premature infants and newborns. *J Neonatal Perinatal Med*. 9 (3): 233–242. doi: 10.3233/NPM-16915130. PMID: 27589549.
 23. Neu J. (2020). Necrotizing Enterocolitis: The Future. *Neonatology*. 117 (2): 240–244. doi: 10.1159/000506866. Epub 2020 Mar 10. PMID: 32155645.
 24. Rich BS, Dolgin SE. (2017, Dec). Necrotizing Enterocolitis. *Pediatr Rev*. 38 (12): 552–559. doi: 10.1542/pir.2017-0002. PMID: 29196510.

Відомості про авторів:

Абатуров Олександр Євгенович — д.мед.н., проф., зав. каф. педіатрії 1 та медичної генетики Дніпровського ДМУ. Адреса: м. Дніпро, вул. Вернадського, б. 9. <https://orcid.org/0000-0001-9261-9051>.

Товарницька Анна Олександрівна — асистент каф. акушерства, гінекології та педіатрії ТОВ «Дніпровський медичний інститут традиційної та нетрадиційної медицини». Адреса: м. Дніпро, вул. Академіка Г. Дзяка, б. 3 <https://orcid.org/0000-0002-3486-3475>.

Стаття надійшла до редакції 07.10.2022 р., прийнята до друку 19.12.2022 р.