

Εντερική συμπληρωματική χορήγηση L-αργινίνης για πρόληψη της νεκρωτικής εντεροκολίτιδας στα πολύ χαμηλού βάρους νεογνά: Μία διπλή τυφλή τυχαιοποιημένη μελέτη αποτελεσματικότητας και ασφάλειας

Πολυκάρπου Ε.¹, Ζαχάκη Σ.², Τσολιά Μ.³, Παπαεναγγέλου Β.³, Πολυκάρπου Ν.⁴, Γαβρίλη Σ.¹, Κώσταλος Χ.¹, Καφετζής Δ.³

¹ Μονάδα εντατικής νοσηλείας νεογνών Γ. Π. Ν. Α. «Αλεξάνδρα», Αθήνα, Ελλάδα

² Τμήμα Ιατρικής Γενετικής, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Νοσοκομείο Παιδών Αγία Σοφία, Αθήνα, Ελλάδα

³ Νοσοκομείο Παιδών Άγλαία Κυριακού, 2η Πανεπιστημιακή Παιδιατρική Κλινική, Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, Ελλάδα

⁴ Τμήμα Ακτινολογίας, Νοσοκομείο Παιδών Αγία Σοφία, Αθήνα, Ελλάδα

Αλληλογραφία: S. Zachaki, email: szachaki@gmail.com and E. Polycarpou, e-mail: epolycarpou@yahoo.com, 81 Holborn House, Du cane road, London, W12 0TS, UK, tel.: 0044 (0)7881900580, fax: 0030 210 6534710.

Περίληψη

Εισαγωγή: Η Νεκρωτική εντεροκολίτιδα (NEK) είναι η πιο συχνή επίκτητη γαστρεντερική νόσος στα πρόωρα νεογνά, και έχει υψηλή θνησιμότητα και νοσηρότητα. Το ενδοθηλιακό μονοξείδιο του αζώτου είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της αιμάτωσης και συντίθεται από το αμινοξύ L-αργινίνη. Τα πρόωρα νεογνά συχνά παρουσιάζουν υποαργινιναιμία που μπορεί να προδιαθέτει σε NEK. Στόχος μας ήταν να προσδιοριστεί η επίδραση της συμπληρωματικής εντερικής χορήγησης L-αργινίνης σε πολύ χαμηλού βάρους γέννησης (ΠΧΒΓ) νεογνά σχετικά με τη συχνότητα και / ή τη σοβαρότητα της NEK.

Υλικά και Μέθοδοι: Διενεργήσαμε μια παράλληλη διπλή-τυφλή τυχαιοποιημένη πιλοτική μελέτη ΠΧΒΓ νεογνών με βάρος γέννησης $\leq 1500\text{g}$ και ηλικία κύησης ≤ 34 εβδομάδες. Τα νεογνά τυχαιοποιήθηκαν να λαμβάνουν εντερικώς συμπλήρωμα L-αργινίνης (1.5mmol/Kg/day) μεταξύ της 3ης και 28ης ημέρας της ζωής ή εικονικό φάρμακο. Η διάγνωση και ταξινόμηση της NEK έγιναν σύμφωνα με τα τροποποιημένα κριτήρια κατά Bell.

Αποτελέσματα: 83 νεογνά τυχαιοποιήθηκαν σε δύο ομάδες να λάβουν αργινίνη (N = 40) ή εικονικό φάρμακο (N = 43). Δεν παρατηρήθηκαν παρενέργειες στα νεογνά που έλαβαν συμπλήρωμα αργινίνης. Η συχνότητα εμφάνισης της NEK σταδίου III ήταν σημαντικά χαμηλότερη στην ομάδα της L-αργινίνης (2,5% έναντι 18,6%, $p = 0,030$).

Συμπεράσματα: Η L-αργινίνη μπορεί να χορηγείται με ασφάλεια εντερικώς στη δόση των των 1,5 mmol / kg / ημέρα (261mg/kg) στα ΠΧΒΓ νεογνά. Η συμπληρωματική χορήγηση εντερικώς L-αργινίνης φαίνεται πως μειώνει τη σοβαρότητα της NEK. Μελέτες με μεγαλύτερο αριθμό νεογνών απαιτούνται για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των συμπληρωμάτων L-αργινίνης στην πρόληψη της NEK.

Λέξεις κλειδιά: L-αργινίνη, νεκρωτική εντεροκολίτιδα (NEK), μονοξείδιο του αζώτου (NO)

Εισαγωγή

Η νεκρωτική εντεροκολίτιδα (NEK) είναι η πιο συχνή επίκτητη γαστρεντερική νόσος σε πρόωρα νεογνά. Στην NEK το λεπτό έντερο (πιο συχνά το άπω) και / ή το παχύ έντερο τραυματίζονται, αναπτύσσεται ενδοτοιχωματικός αέρας, και αυτό μπορεί να εξελιχθεί σε νέκρωση με διάτρηση¹. Η υψηλή θνησιμότητα και νοσηρότητα από την NEK δεν έχουν βελτιωθεί σημαντικά κατά τα τελευταία 40 χρόνια. Αν και εκτεταμένη έρευνα διερεύνησε την παθοφυσιολογία της NEC, δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί.

Η παθολογία της NEK μοιάζει συχνά με βλάβη από ισχαιμία-επαναιμάτωση. Ένας σημαντικός ρυθμιστής της εντερικής αγγειακής αιμάτωσης είναι το ενδοθηλιακό μονοξείδιο του αζώτου (NO), ένας αντιφλεγμονώδης χημικός μεσολαβητής και αγγειοδιασταλτικό που εμπλέκεται στη διατήρηση της ακεραιότητας του βλεννογόνου, στην εντερική λειτουργία φραγμού και στη ρύθμιση της αιματικής ροής του εντερικού βλεννογόνου σε φλεγμονή ή τραυματισμό. Η αναστολή της σύνθεσης NO σε μία ποικιλία ζωικών μοντέλων στα οποία προκαλείται τραυματισμός του εντέρου, αυξάνει την περιοχή της εντερικής βλάβης^{2,3}. Το NO συντίθεται από το αμινοξύ L-αργινίνη με τη βοήθεια των NO συνθετάσων (NOS).

Η αργινίνη είναι ένα υπό "όρους" απαραίτητο αμινοξύ, πράγμα που σημαίνει ότι η ενδογενής παραγωγή αργινίνης καλύπτει της μεταβολικές απαιτήσεις σε υγιή άτομα, κάτω από συνθήκες βασικού μεταβολισμού, αλλά γίνεται ένα απαραίτητο αμινοξύ υπό συνθήκες αυξημένης ανάγκης, π.χ. σε ανάπτυξη ή επιδιόρθωση των ιστών, ή σε καταβολικές καταστάσεις, όπως στην σήψη και αστία⁴. Τα πρόωρα νεογνά, παρουσιάζουν συχνά υποαργινιναιμία⁵ και υπάρχει η υπόθεση πως αυτή προδιαθέτει αυτά τα βρέφη στην ανάπτυξη NEK⁶⁻⁸. Μελέτες σε νεογέννητους αρουραίους έδειξαν ότι η εντερική αργινίνη έχει ευνοϊκές επιδράσεις στο οξειδωτικό στρες σε πειραματικά μοντέλα τραυματισμού υποξίας επαναιμάτωσης καθώς και σε υγιείς νεογέννητους αρουραίους^{9, 10}.

Μια σχετική ανεπάρκεια αργινίνης ή ανωριμότητα της δραστηριότητας της NOS σε πρόωρα νεογνά, μπορεί να οδηγήσει σε ανεπαρκή επίπεδα NO ιστών, αγγειοσυστολή και βλάβη από ισχαιμία επαναιμάτωση και μπορεί να προδιαθέτει σε NEK. Τα επίπεδα πλάσματος αργινίνης βρεθήκαν μειωμένα σε πρόωρα νεογνά με NEK^{11, 12}. Υπάρχει μόνο μία προηγούμενη μελέτη από Amin et al¹³ που αξιολόγησε την επίδραση της συμπληρωματικής χορήγησης L-αργινίνης στην συχνότητα εμφάνισης της NEK σε πρόωρα νεογνά και προτείνει πως η συ-

μπληρωματική χορήγηση αργινίνης στα πρόωρα νεογνά μπορεί να μειώσει τη συχνότητα εμφάνισης όλων των σταδίων της NEK. Σε αυτή τη μελέτη από Amin et al, 1.5mmol/kg/day L-αργινίνης ή εικονικό φάρμακο προστέθηκε στην παρεντερική διατροφή και όταν η εντερική πρόσληψη τροφής ήταν > 40% της συνολικής ημερήσιας πρόσληψης υγρών, L-αργινίνη ή εικονικό φάρμακο χορηγήθηκε από του στόματος κατά τη διάρκεια των πρώτων 28 ημερών της ζωής. Οι Amin et al επέλεξαν την συμπληρωματική δόση L-αργινίνης 1,5 mmol (261 mg) / kg ανά ημέρα, με βάση την προηγούμενη μελέτη τους¹¹ για την επίτευξη συγκεντρώσεων στο πλάσμα αργινίνης παρόμοιων με των υγιών τελειομήνων νεογνών. Δεν παρατήρησαν καμία αύξηση σε υπόταση, υπογλυκαιμία, ή ενδοκοιλιακή αιμορραγία. Επιπλέον, σημαντικά υψηλότερες θεραπευτικές δόσεις L-αργινίνης χρησιμοποιήθηκαν (φόρτωση 600 mg / kg ακολουθούμενη από μια έγχυση 250 mg / kg ανά ημέρα) χωρίς δυσμενείς επιπτώσεις στη αντιμετώπιση των διαταραχών του κύκλου της ουρίας^{14, 15}. Επιπλέον, νεογέννητοι χοίροι καθώς και ενήλικες αρουραίοι μπορούν να ανεχθούν μεγάλες ποσότητες εντερικώς συμπληρωματικής αργινίνης, χωρίς την εμφάνιση οποιασδήποτε ανεπιθύμητης ενέργειας^{7, 16}.

Στην παρούσα μελέτη, με βάση τους Amin et al, επιλέξαμε να δώσουμε 1.5mmol/Kg/day L-αργινίνης από την ημέρα 3 έως 28, αποκλειστικά εντερικώς θεωρώντας ότι η αργινίνη θα μπορούσε να έχει ευεργετικό αποτέλεσμα τοπικά επί του εντερικού βλεννογόνου αυξάνοντας τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων μέσω παραγωγής άλλων αμινοξέων και πολυαμινών^{4, 17}. Συγκρίνοντας τη δική μας μελέτη με αυτή των Amin et al, και στις δύο αποκλείονται νεογνά με σοβαρές συγγενείς ανωμαλίες ή εγγενή λάθη του μεταβολισμού, αλλά οι Amin et al απέκλεισαν επιπλέον νεογνά με ενδοκοιλιακή αιμορραγία (IVH) βαθμού \geq II σε υπερηχογράφημα εγκεφάλου την ημέρα 3 της ζωής, συζευγμένη υπερχολερυθριναιμία, αφαιματομετάγγιση κατά τη διάρκεια της περιόδου μελέτης ή με προϋπάρχουσα νεφρική ανεπάρκεια (<0,5 mL / kg ανά ώρα σύρων για > 8 ώρες).

Χρειάζονται περισσότερες μελέτες για να αξιολογηθεί η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα της συμπληρωματικής χορήγησης αργινίνης για την πρόληψη της NEK σε ΠΧΒΓ νεογνά. Ο σκοπός αυτής της διπλής τυφλής μελέτης ήταν να προσδιορίσει αν η συμπληρωματική χορήγηση εντερικώς L-αργινίνης σε ΠΧΒΓ νεογνά μειώνει τη συχνότητα και / ή τη σοβαρότητα της NEK.

Πίνακας 1. Δεδομένα νεογνών που έλαβαν συμπληρωματική χορήγηση αργινίνης (N=40) και των μαρτύρων (N=43).

	Νεογνά που έλαβαν αργινίνη N=40 (%)	Νεογνά που δεν έλαβαν αργινίνη N=43 (%)	P-value
Φύλο Άρρεν	17 (42.5%)	19 (44.2%)	ns
Θύλη	23 (57.5%)	24 (55.8%)	
Βάρος σώματος(g)*	1168 (1095.1, 1242.2)	1127 (1047.1, 1207.6)	ns
Ηλικία κηίσεως (εβδομάδες)*	29.2 (28.9, 29.4)	28.8 (28.5-29.1)	ns
Καισαρική τομή	30 (75%)	32 (74.4%)	ns
Φυσιολογικός τοκετός	10 (25%)	11 (25.6%)	
ελλιποβαρή	16 (40%)	14 (32.6%)	ns
Αντιβιοτικά στη μητέρα κατά τον τοκετό	14 (35%)	18(42%)	ns
Μητρικό γάλα	7 (17.5%)	5 (11.6%)	ns
Γάλα για πρόωρα (formula)	33 (82.5%)	38 (88.4%)	
Argar score 1min**	7	7	ns
5min**	8	8	ns
ΣΑΔ	31 (77.5%)	35 (81.4%)	ns
Στεροειδή στη μητέρα προγεννητικά	32 (80%)	34 (79.1%)	ns
Ενδοκοιλιακή αιμορραγία (IVH)			
Βαθμού III και IV	9 (22.5%)	12 (27.9%)	ns

*μέση τιμή (IQR), **διάμεσος τιμή, ns: μη στατιστικώς σημαντικό

Υλικά και μέθοδοι

Σχεδιασμός της μελέτης

Διεξάγαμε μια τυχαιοποιημένη, διπλή-τυφλή, παράλληλων ομάδων ελεγχόμενη με εικονικό φάρμακο μελέτη με πολύ χαμηλού βάρους νεογνά (ΠΧΒΝ) που γεννήθηκαν διαδοχικά στο Νοσοκομείο «Αλεξάνδρα», στην Αθήνα, Ελλάδα μεταξύ Ιουνίου 2009 και Σεπτεμβρίου 2010. Το «Αλεξάνδρα» είναι ένα Πανεπιστημιακό Μαιευτήριο με 5.500 τοκετούς / έτος και με περίπου 150 εισαγωγές / έτος ΠΧΒΝ. Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την επιτροπή δεοντολογίας του νοσοκομείου και εν επιγνώσει γραπτή συναίνεση αποκτήθηκε από τους γονείς.

Επιλογή νεογνών

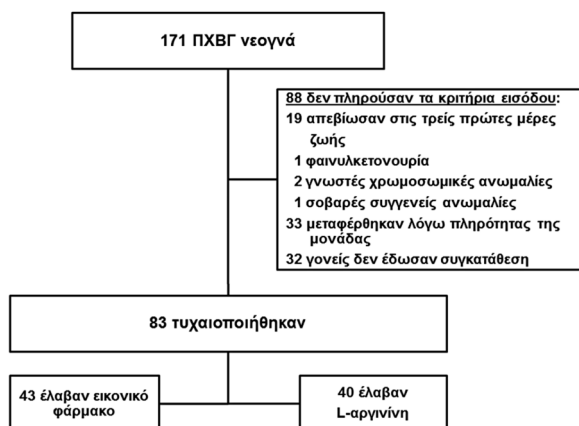
Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν ΠΧΒΓ νεογνά με βάρος γέννησης $\leq 1500g$ και ηλικία κήσης ≤ 34 εβδομάδες, όπως καθορίζεται από την τελευταία εμμηνο ρύση της μητέρας και την βαθμολόγηση κατά Ballard. Τα νεογνά είχαν αποκλεισθεί εάν είχαν θανατηφόρες συγγενείς ή χρωμοσωμικές ανωμαλίες, εκ γενετής προβλήματα μεταβολισμού ή εάν οι γονείς αρνήθηκαν συγκατάθεσή.

Επέμβαση

Τα νεογνά στην ομάδα της αργινίνης έλαβαν ημερησίως εντερικώς συμπλήρωμα L-αργινίνης 1,5 mmol / kg / ημέρα (261mg/kg) σε υγρή μορφή σε δύο ίσες δόσεις μέσω ρινογαστρικού σωλήνα, από την 3η έως την 28η ημέρα μετά τη γέννηση, ενώ τα νεογνά στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου έλαβαν 5% γλυκόζη σε ισοδύναμο όγκο. Το φαρμακείο παρασκεύαζε αραιώσεις του ίδιου όγκου συμπληρώματος αργινίνης (L-αργινίνη, Nutricia) και εικονικού φαρμάκου που περιέχει 5% γλυκόζη και οι νοσοκόμες που χορηγούσαν τα διαλύματα δεν είχαν γνώση του περιεχομένου του διαλύματος (αδιαφανή δοχεία) και δεν γνώριζαν σε ποία από τις δύο ομάδες άνηκε ο κάθε ασθενής.

Με βάση την βιβλιογραφία 16,18, κατά τη διάρκεια της περιόδου της μελέτης όλα τα βρέφη που έλαβαν μέρος στη μελέτη παρακολουθήθηκαν για παρενέργειες, όπως διάρροια, έμετο, χαμηλή πίεση του αίματος και υπογλυκαιμία / υπεργλυκαιμία.

Εντερική σίτιση άρχισε στα 10-25 ml / kg / ημέρα κατά την 1η ημέρα της ζωής (τροφική σίτιση) και αυξήθηκε από την 4η ημέρα της ζωής και μετά με 10-25 ml / kg / ημέρα αν ήταν ανεκτή, μέχρι 150 -



Σχήμα 1. Διάγραμμα ροής της παράλληλης τυχαιοποιημένης μελέτης των δύο ομάδων.

180 ml / kg / ημέρα. Το μητρικό γάλα ήταν πάντα ενισχυμένο (BMF, Nutricia, Άμστερνταμ, Ολλανδία) με 2 φακελάκια BMF/100ml. Τα βρέφη που δεν έλαβαν μητρικό γάλα (δεν ήταν διαθέσιμο) έλαβαν γάλα για πρόωρα βρέφη Almiron (Numico, Άμστερνταμ, Ολλανδία). Δεν χρησιμοποιήθηκε γάλα τράπεζας μητρικού γάλατος.

Αποτελέσματα

Πρωτεύοντα αποτελέσματα – Η επίπτωση της NEK τους πρώτους 3 μήνες ζωής

Η διάγνωση και ταξινόμηση της NEK έγινε σύμφωνα με τα τροποποιημένα κριτήρια κατά Bell¹⁹, ²⁰. Οι νεογνολόγοι που ταξινόμησαν τα επεισόδια της NEK, καθώς και ο ακτινολόγος, ο οποίος αξιολόγησε τις ακτινογραφίες κοιλίας δεν γνώριζαν για την κατανομή των ασθενών.

Δευτερεύοντα αποτελέσματα

Η ηλικία της διάγνωσης της NEK και θνησιμότητα λόγω NEK.

Το μέγεθος του δείγματος

Υπολογίσαμε ότι ένα ελάχιστο από 326 νεογνά σε κάθε ομάδα απαιτείται για να ανιχνεύσει μια μείωση στη συχνότητα εμφάνισης της NEK (στάδιο II και III) από 8% έως 3% με δύο όψεων επίπεδο σημαντικότητας 5%, και με δύναμη του 80%. Τα νεογνά τυχαιοποιήθηκαν σε 2 ομάδες: αργινίνης και ομάδα ελέγχου χρησιμοποιώντας ένα πρόγραμμα υπολογιστή για τυχαιοποίηση.

Στατιστική ανάλυση

Χρησιμοποιήθηκαν Pearson Chi-square με διόρθωση συνέχειας του Fisher's Exact test χρησιμοποιήθηκαν για να μελετηθεί η συσχέτιση των δημογραφικών / κλινικών δεδομένων μεταξύ της αργινίνης και της ομάδας ελέγχου. Το επίπεδο σημαντικότητας είναι 5%. Το στατιστικό πακέτο SAS v9.2 έχει χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση των δεδομένων.

Αποτελέσματα

Μεταξύ Ιουνίου 2009 και Σεπτεμβρίου 2010, 171 νεογνά με ηλικία κηρίσεως ≤ 34 εβδομάδες και βάρος γέννησης ≤ 1.500 g γεννήθηκαν στο Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο Μαιευτήριο «Αλεξάνδρα». Από αυτά, τα 19 (11%) απεβίωσαν στις πρώτες λίγες ημέρες της ζωής, 4 αποκλείστηκαν από τη μελέτη (1 διαγνώστηκε με φαινυλκετονουρία, 2 είχαν γνωστές χρωμοσωμικές ανωμαλίες και 1 είχε σοβαρές συγγενείς ανωμαλίες) και 33 νεογνά μεταφέρθηκαν σε άλλες μονάδες κατά τις πρώτες ημέρες μετά τη γέννηση, λόγω μη διαθεσιμότητας θέσεων στη μονάδα. Οι γονείς των 32 νεογνών δεν έδωσαν συγκατάθεση. Τα υπόλοιπα 83 νεογνά συμμετείχαν στη μελέτη. Το Σχήμα 1 δείχνει το διάγραμμα ροής συμπεριλαμβανομένων των λόγων για τον αποκλεισμό των 88 νεογνών.

Τα δημογραφικά στοιχεία των νεογνά που έλαβαν συμπλήρωμα L-αργινίνης και των νεογνών που έλαβαν εικονικό φάρμακο παρουσιάζονται στον Πίνακα 1. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ομάδων. Δεν παρατηρήθηκαν παρενέργειες, όπως διάρροιες, έμετοι, υπόταση και υπογλυκαιμία / υπεργλυκαιμία σε νεογνά που έλαβαν συμπληρώματα L-αργινίνης. Όλα τα νεογνά και των δύο ομάδων παρουσίασαν σημαντική αύξηση στην περιφέρεια της κεφαλής, του μήκους και του βάρους κατά την πάροδο του χρόνου ($p < 0.0001$). Οι μεταβολές στο χρόνο όσον αφορά την αύξηση βάρους και την ανάπτυξη της κεφαλής ήταν παρόμοιες και στις δύο ομάδες ($p = 0,430$ για την αύξηση του σωματικού βάρους και $p = 0,310$ για την ανάπτυξη της κεφαλής).

Ο Πίνακας 2 περιγράφει τη νοσηρότητα και θνησιμότητα λόγω NEK και στις δύο ομάδες. Η συχνότητα εμφάνισης όλων των σταδίων NEK ήταν 9 από τα 40 στην αργινίνη και 16 από τα 43 στην ομάδα ελέγχου (22,5% έναντι 37,2%, αντίστοιχα). Τα κριτήρια του σταδίου I είναι εξαιρετικά μη ειδικά ευρήματα και μπορεί να περιλαμβάνουν δυσανεξία σίτισης, ήπια διάταση της κοιλίας, ή και τα δύο (τροποποιημένα κριτήρια του Bell). Έτσι, το στάδιο I της NEK στερείται αντικειμενικών κριτηρίων

Table 2. Επίπτωση NEK, θνησιμότητα και νοσηρότητα λόγω NEK στην ομάδα της αργινίνης και στην ομάδα των μαρτύρων.

	Νεογνά που δεν έλαβαν αργινίνη N=40 (%)	Νεογνά που έλαβαν αργινίνη N=43 (%)	p-value
Επίπτωση NEK (όλα τα στάδια)	9 (22.5%)	16 (37.2%)	ns
Επίπτωση NEK (στάδιο II and III)	4 (10.0%)	10 (23.3%)	ns
Επίπτωση NEK(στάδιο III)	1 (2.5%)	8 (18.6%)	0.030
Ηλικία διάγνωσης NEK* (ημέρες)	17	15	ns
Θνησιμότητα λόγω NEK	0 (0.0%)	4 (9.3%)	0.045
Θνησιμότητα απο άλλες αιτίες (εκτός NEK)	8 (20.0%)	8 (18.6%)	ns

*διάμεσος, ns: μη στατιστικά σημαντικό

για τον προσδιορισμό του. Η χρήση του σταδίου I NEK σε μία προφυλακτική μελέτη είναι αμφισβητήσιμη λόγω της εγγενούς δυνατότητας λάθους στη διάγνωση (αυξανόμενα ποσοστά διάγνωσης ενώ δεν ανταποκρίνονται στη πραγματικότητα)

Συγκρίνοντας τις δύο ομάδες για το στάδιο II και III της NEK και μόνο, η συχνότητα εμφάνισης της NEK σταδίου II και III βρέθηκε να είναι υψηλότερη στην ομάδα των μαρτύρων σε σύγκριση με την ομάδα της αργινίνης (23,3% έναντι 10%, αντίστοιχα), αλλά η διαφορά αυτή ήταν δεν είναι στατιστικά σημαντική. Αυτά τα ευρήματα είναι συνεπή με την προηγούμενη μελέτη με λήψη συμπληρωμάτων αργινίνης σε πρόωρα βρέφη¹⁷ αλλά στη μελέτη μας το στάδιο I της NEK δεν συμπεριλήφθηκε. Απαιτείται ένα μέγεθος δείγματος 122 νεογνών ανά ομάδα για να ανιχνεύσει μια μείωση της συχνότητας εμφάνισης της NEK (στάδιο II και III) από 23,3% έως 10% με δύο όψεων επίπεδο σημαντικότητας 5%, και με ισχύ 80%. Η ισχύς αυτής της μελέτης για την ανίχνευση διαφορών στην επίπτωση της NEK (στάδιο II και III) με δύο όψεων επίπεδο σημαντικότητας 5% είναι 36% και έτσι υπάρχει μια μεγάλη πιθανότητα ενός τύπου II σφάλματος.

Όταν η επίπτωση της NEK σταδίου III μόνο συγκρίθηκε, μία στατιστικά σημαντικά χαμηλότερη επίπτωση της NEK σταδίου III βρέθηκε σε νεογνά που λαμβάνουν εντερικώς συμπλήρωμα αργινίνης σε σύγκριση με τους μάρτυρες (1/40, 2,5% έναντι 8/43, 18,6%) (p = 0,030, OR = 0,112, 95% CI = [0,013 - 0,942]).

Εστιάζοντας μόνο στα νεογνά που δεν έλαβαν μητρικό γάλα (έλαβαν Almiron για πρόωρα νεογνά) ώστε να εξαλειφθεί ένας δυναμικός παράγοντας σύγχυσης που θα μπορούσε να επηρεάσει την συχνότητα εμφάνισης της NEK, οι παρατηρούμενες συχνότητες της NEK στάδια II και III ήταν 4 από 33 (12,1%) στην

ομάδα της αργινίνης και 10 από 38 (26,3%) στον πληθυσμό ελέγχου ($\rho = 0,134$, $\chi^2 = 2,25$, $df = 1$). Συγκρίνοντας το στάδιο III της NEK μεταξύ των ομάδων αργινίνης και μαρτύρων των νεογνών πάλι μόνο που έλαβαν Almiron μία σημαντικά υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης της NEK σταδίου III παρατηρήθηκε με 1 νεογνό από 33 (3,0%) στην ομάδα της αργινίνης και 8 νεογνά από 38 (21,1%) στην ομάδα των μαρτύρων να έχουν αναπτύξει NEK σταδίου III (p = 0,023, $\chi^2 = 5,18$, $df = 1$). Απο τα αποκλειστικώς με μητρικό γάλα διατρεφόμενα νεογνά κανένα δεν ανέπτυξε NEK οποιουδήποτε σταδίου.

Η θνησιμότητα λόγω NEK είναι στατιστικά χαμηλότερη στην ομάδα της αργινίνης σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου (0,0% έναντι 9,3%, αντίστοιχα, $\rho = 0,045$). Η θνησιμότητα απο άλλες αιτίες ήταν παρόμοια στην αργινίνη και στην ομάδα ελέγχου (20% έναντι 18,6%, αντίστοιχα). Συγκεκριμένα, στην ομάδα ελέγχου, τρία νεογνά απεβίωσαν από σήψη (*Serratia marcescens* σε δύο από αυτές και *Klebsiella pneumoniae* στο τρίτο απομονώθηκαν σε καλλιέργεια αίματος) στις ημέρες 27, 43 και 29 μετά τη γέννηση, αντίστοιχα, δύο νεογνά απεβίωσαν από σοβαρό σύνδρομο αναπνευστικής δυσχέρειας των προώρων (ΣΑΔ) τις ημέρες 3 και 9 μετά τη γέννηση, ένα νεογνό απεβίωσε από μηνιγγίτιδα από ψευδομονάδα την ημέρα 60 μετά τη γέννηση, ένα νεογνό απεβίωσε από υπερτροφική μυοκαρδιοπάθεια την ημέρα 71 και ένα νεογνό απεβίωσε απροσδόκητα στις 33 ημέρες μετά τη γέννηση (αιφνίδια καρδιακή ανακοπή). Στην ομάδα της αργινίνης τέσσερα νεογνά απεβίωσαν από σήψη (σε δύο από αυτά *Serratia marcescens* και στα άλλα δύο ψευδομονάδα απομονώθηκαν σε καλλιέργεια αίματος) τις ημέρες 37, 21, 67 και 14 μετά τη γέννηση, αντίστοιχα, ένα νεογνό απεβίωσε από 4ου βαθμού ενδοκοιλιακή αιμορραγία (IVH) και μεθαιμορραγικό υδροκέ-

φαλο την ημέρα 49 και 3 νεογνά απεβίωσαν από σοβαρό ΣΑΔ-πνευμονική αιμορραγία τις ημέρες 5 (δύο από αυτά) και 17 μετά τη γέννηση.

Από τις 32 νεογνά των οποίων οι γονείς δεν έδωσαν συγκατάθεση, η επίπτωση του σταδίου II και III της NEC ήταν 7 από 32 (22%) και η επίπτωση της NEC σταδίου III ήταν 5 από 32 (16%). Η επίπτωση της NEC σε αυτά τα βρέφη οι γονείς των οποίων δεν έδωσαν συγκατάθεση δεν είναι στατιστικά διαφορετική από την επίπτωση της NEC στην ομάδα του εικονικού φαρμάκου. Αυτή η σύγκριση πραγματοποιείται με σκοπό να διασφαλιστεί ότι ο πληθυσμός των νεογνών που περιλαμβάνονται στη μελέτη ήταν αντιπροσωπευτικός του πληθυσμού των πολύ χαμηλού βάρους νεογνών της μονάδας.

Συζήτηση

Η NEC είναι μια καταστροφική ασθένεια σε νεογνά και μια από τις πιο δύσκολες να εξαλειφθεί παρά τις προόδους στην εντατική θεραπεία νεογνών. Το εκτιμώμενο ποσοστό του θανάτου που συνδέεται με την NEC κυμαίνεται μεταξύ 20-30% με το υψηλότερο ποσοστό μεταξύ των βρεφών που χρειάζονται χειρουργική αντιμετώπιση²¹. Επιπλέον, τα βρέφη που αναρρώνουν από NEC έχουν πιθανότητα 25% να έχουν μικροκεφαλία και σοβαρή νευροαναπτυξιακή καθυστέρηση^{22, 23}. Μια άλλη ανησυχία είναι ότι η ανάπτυξη της NEC οδηγεί σε αυξημένη διάρκεια παρεντερικής διατροφής αυξάνοντας τόσο τον κίνδυνο των λοιμωδών επιπλοκών όσο και τη διάρκεια της παραμονής στο νοσοκομείο²⁴. Ασθενείς με επιπλοκές όπως σύνδρομο βραχέος εντέρου έχουν ένα πολύ υψηλό μέσο κόστος φροντίδας. Λαμβάνοντας υπόψη όλα αυτά και το γεγονός ότι οι στρατηγικές θεραπείας δεν έχουν οδηγήσει σε καμία ουσιαστική βελτίωση σε σχέση με τη θνησιμότητα και νοσηρότητα, η ανεύρεση αποτελεσματικών μεθόδων πρόληψης αποτελεί προτεραιότητα για την έρευνα. Πολλές προσεγγίσεις πρόληψης έχουν διερευνηθεί συμπεριλαμβανομένης της παρακράτησης εντερική σίτισης, εντερικά αντιβιοτικά, τη χορήγηση διαφόρων παραγόντων ανάπτυξης, πρεβιοτικών ή προβιοτικών παραγόντων, αντικυτταροκινών, γλυκοκορτικοειδών, αμινοξέων και μητρικού γάλατος. Ανάμεσα σε όλες τις προτεινόμενες μεθόδους πρόληψης, το μητρικό γάλα είναι αυτό για το οποίο υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις της αποτελεσματικότητας και ασφάλειας²⁵. Η L-αργινίνη μπορεί να αποδειχθεί ότι είναι ένα αποτελεσματικό προληπτικό μέτρο για την NEC. Υπάρχει μόνο μία προηγούμενη μελέτη αξιολόγησης της αποτελεσματικότητας της σε πρόωρα νεο-

γνά, όπως αναφέρεται πιο πάνω 13. Υπάρχουν κάποιες ενδείξεις για την αποτελεσματικότητα, αλλά είναι σημαντικό να βρούμε τη σωστή δόση, οδό και διάρκεια χορήγησης και να προσκομίσουμε αρκετά αποδεικτικά στοιχεία για την ασφάλειά της. Προς γνώση μας, η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη μελέτη που έγινε σε πρόωρα νεογνά στην οποία η συμπληρωματική χορήγηση αργινίνης χορηγήθηκε σε πρόωρα νεογνά αποκλειστικά από την εντερική οδό. Βρέθηκε να είναι ασφαλής στη χρησιμοποιημένη δόση και στη διάρκεια χορήγησης. Δεν παρατηρήθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες από την εντερική χορήγηση συμπληρωμάτων L-αργινίνης 1.5mmol/kg/ημέρα. Από την εμπειρία μας, η από του στόματος χορήγηση L-αργινίνης είναι χαμηλού κόστους και πολύ εύκολο να δοθεί.

Όσον αφορά την αποτελεσματικότητά της, τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η συμπληρωματική χορήγηση αργινίνης μπορεί να έχει επίδραση στη μείωση της σοβαρότητας της NEC. Το στάδιο III της NEC που είναι το πιο σοβαρό οδηγώντας συχνά σε θάνατο βρέθηκε να μειώνεται αξιοσημείωτα στην ομάδα των νεογνών που έλαβαν συμπλήρωμα L-αργινίνης. Επιπλέον, η συχνότητα εμφάνισης της NEC μειώθηκε σε νεογνά που έλαβαν L-αργινίνη σε σύγκριση με τα νεογνά που έλαβαν εικονικό φάρμακο. Αυτό θα μπορούσε να αποδειχθεί ότι είναι σημαντικό με ένα μεγαλύτερο μέγεθος δείγματος.

Αυτά τα ευρήματα παρέχουν περισσότερα στοιχεία σχετικά με την αποτελεσματικότητά της L-αργινίνης για την πρόληψη της NEC και παρέχουν πληροφορίες σχετικά με το πώς να χορηγηθεί με ασφάλεια η L-αργινίνη, καθοδηγώντας τους κλινικούς ιατρούς που είναι υπεύθυνοι για τη φροντίδα των πρόωρων νεογνών.

Εν κατακλείδι, η συμπληρωματική χορήγηση εντερικώς L-αργινίνης μπορεί να χορηγηθεί με ασφάλεια στην δόση των 1,5 mmol / kg / ημέρα (261mg/kg) που χρησιμοποιήθηκε σε ΠΧΒΝ νεογνά. Επίσης τα νεογνά που λαμβάνουν συμπληρωματική χορήγηση L-αργινίνης φαίνεται να εμφανίζουν λιγότερη σοβαρή νόσο (χαμηλότερο στάδιο NEC) αλλά μεγαλύτερες μελέτες απαιτούνται για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας της L-αργινίνης στην πρόληψη της NEC.

Οι συγγραφείς του παραπάνω χειρόγραφου δηλώνουν ότι δεν υπάρχει καμία σύγκρουση συμφερόντων σε σχέση με το άρθρο αυτό.

Ευχαριστίες

Οι συγγραφείς επιθυμούν να ευχαριστήσουν όλους

τους γονείς για την προθυμία τους να συμμετάσχουν σε αυτή τη μελέτη και όλο το νοσηλευτικό προσωπικό του τμήματος Νεογνών του Νοσοκομείου «Αλεξάνδρα» για τη βοήθειά τους κατά τη διάρκεια της μελέτης. Η μελέτη αυτή είναι εγγεγραμμένη στο ClinicalTrials.gov με μοναδικό αριθμό πρωτοκόλλου ID: ΑΛΕΞΑΝΔΡΑ 9159.

ENTERAL L-ARGININE supplementation for prevention of necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates: a double-blind randomised pilot study of efficacy and safety

Polycarpou E.¹, Zachaki S.², Tsolia M.³, Papaevangelou V.³, Polycarpou N.⁴, Gavriili S.¹, Kostalos C.¹, Kafetzis D.³

¹ Neonatal Intensive Unit, General District Hospital Athens
1 Alexandraí, Athens, Greece

² Department of Medical Genetics, Athens University,
St Sophiaí s Childrení s Hospital, Athens, Greece

³ Childrení s Hospital 1 Aglaia Kyriakouí, 2nd Department of
Paediatrics, University of Athens, Athens, Greece

⁴ Radiology, Athens University, St Sophiaí s Childrení s Hospital, Athens, Greece

Correspondence: E. Polycarpou, e-mail: epolycarpou@yahoo.com,
81 Holborn House, Du cane road, London,
W12 0TS, UK, tel.: 0044 (0)7881900580,
fax: 0030 210 6534710.

Summary

Background: Necrotizing enterocolitis (NEC) is the most common acquired gastrointestinal disease in premature infants and has high mortality and morbidity. Endothelial nitric oxide is an important regulator of vascular perfusion and is synthesized from the amino acid L-arginine. Hypoargininaemia is frequently observed in preterm neonates and may predispose them to NEC. Our objective was to determine the effect of enteral L-arginine supplementation in very low birth weight (VLBW) neonates on the incidence and/or the severity of NEC.

Materials and Methods: We conducted a parallel double-blind randomized pilot study of VLBW neonates with birth weight ≤ 1500 g and gestational age ≤ 34 weeks. VLBW neonates were randomly assigned to receive enteral L-arginine supplementation (1.5mmol/Kg/day) between the 3rd and 28th day of life or placebo. Diagnosis and classification of NEC were done according to modified Bells' criteria.

Results: 83 neonates were randomized to arginine (N=40) or placebo (N=43) group. No adverse effects were observed in neonates receiving arginine supplementation. The incidence of NEC stage III was significantly lower in the arginine supplemented group (2.5% vs 18.6%, $p=0.030$).

Conclusions: Enteral L-arginine supplementation can be safely administered in the dose used in VLBW neonates. Enteral L-arginine supplementation seems to reduce the severity of NEC. Larger studies are required to assess the efficiency of L-arginine supplementation in the prevention of NEC.

Key words: arginine supplementation, necrotizing enterocolitis (NEC), Nitric Oxide (NO)

Βιβλιογραφία

1. Srinivasan PS, Brandler MD, D'Souza A. Necrotizing Enterocolitis. Clin Perinatol 2008;35:251-72.
2. Cintra AE, Martins JL, Patricio FR, Higa EM, Montero EF. Nitric oxide levels in the intestines of mice submitted to ischemia and reperfusion: L-arginine effects. Transplant Proc 2008; 40:830-5.
3. K Fukatsu, C Ueno, Y Maeshima, E Hara, H Nagayoshi et al. Effects of L-arginine infusion during ischemia on gut blood perfusion, oxygen tension, and circulating myeloid cell activation in a murine gut ischemia/reperfusion model. J Parenter Enteral Nutr 2004; 4: 224-230.
4. Wu G, Bazer FW, Davis TA, et al. Arginine metabolism and nutrition in growth, health and disease. Amino Acids 2009;37:153-68.
5. Batshaw ML. Long term treatment of inborn errors of urea synthesis. In: Kleinberger G, Ferenci P, Riederer P, Thaler H, editors. Advances in hepatic encephalopathy and urea cycle diseases. Basel (Switzerland): Karger; 1984. p. 187-95.
6. He Q, Kong X, Wu G, et al. Metabolomic analysis of the response of growing pigs to dietary L-arginine supplementation. Amino Acids 2009;37:199-208.
7. Wu G, Jaeger LA, Bazer FW, et al. Arginine deficiency in preterm infants: biochemical mechanisms and nutritional implications. J Nutr Biochem 2004;15:442-51.
8. Nankervis CA, Giannone PJ, Reber KM. The neonatal intestinal vasculature: contributing factors to necrotizing enterocolitis. Semin Perinatol 2008;32:83-91.
9. Kul M, Vurucu S, Demirkaya E, et al. Enteral glutamine and/or arginine supplementation have favorable effects on oxidative stress parameters in neonatal rat intestine. J Pediatr Gastroenterol Nutr 2009;49:85-9.
10. Akisu M, Ozmen D, Baka M, et al. Protective effect of dietary supplementation with L-arginine and L-carni-

- tine on hypoxia/reoxygenation-induced necrotizing enterocolitis in young mice. *Biol Neonate* 2002;81:260-5.
11. Zamora SA, Amin HJ, McMillan DD, Kubes P, Fick GH et al. Plasma L-arginine concentrations in premature infants with necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1997;131:226-32.
 12. Richir MC, Siroen MP, van Elburg RM, Fetter WP, Quik F et al. Low plasma concentrations of arginine and asymmetric dimethylarginine in premature infants with necrotizing enterocolitis. *Br J Nutr* 2007;97:906-11.
 13. Amin HJ, Zamora SA, McMillan DD, Fick GH, Butzner JD et al. Arginine supplementation prevents necrotizing enterocolitis in the premature infant. *J Pediatr* 2002;140:425-31.
 14. Batsha ML. Long term treatment of inborn errors of urea synthesis. In: Kleinberger G, Ferenci P, Riederer P, Thaler H, eds. *Advances in hepatic encephalopathy and urea cycle disease*. Base (Switzerland):Karger;1984:187-95.
 15. Urea Cycle Disorders Conference Group. Consensus statement from a conference for the management of patients with urea cycle disorders. *J Pediatr* 2001;138(Suppl):S1-5.
 16. Wu G, Bazer FW, Cudd TA, et al. Pharmacokinetics and safety of arginine supplementation in animals. *J Nutr* 2007;137(6 Suppl 2):1673S-80.
 17. Neu J. Arginine supplementation for neonatal necrotizing enterocolitis: are we ready? *Br J Nutr* 2007;97:814-5.
 18. Grimble et al. Adverse gastrointestinal effects of arginine and related aminoacids. *Journal of Nutrition* 2007;137:1693S-1701S.
 19. Bell MJ, Ternberg JL, Feigin RD, Keating JP, Marshall R et al. Neonatal necrotising enterocolitis. Therapeutic decisions based upon clinical staging. *Ann Surg* 1978;187:1-7.
 20. Caplan MS, Jilling T. New concepts in necrotizing enterocolitis. *Curr Opin Pediatr* 2001;13:111-5.
 21. Fitzgibbons et al. Mortality of NEC expresses by birth weight categories. *J Pediatr surgery* 2009;44:1072-5.
 22. Salgab WA et al. NEC and neurodevelopmental outcome in extremely low birth weight infants (<1,000g) *J of Perinatology* 2004;24:534-540.
 23. Bedrick AD et al. NEC: neurodevelopmental “risky business” *J of Perinatology* 2004;24:531-3.
 24. Stoll BJ et al. Late onset sepsis in low birth weight neonate - the experience of NICHD Neonatal Research Network *Paediatrics* 2002;110:285-91.
 25. Sullivan S, Schanler RJ, Kim JH, Patel AL, Trawöger R et al. An exclusively human milk-based diet is associated with a lower rate of necrotizing enterocolitis than a diet of human milk and bovine milk-based products. *J Pediatr* 2010;156:562-7.