

ОСОБЛИВОСТІ ІМУННИХ РЕАКЦІЙ ДІТЕЙ, ЯКИХ ВИГОДОВУЮТЬ МАТЕРІ-КУРЦІ

Запорізький державний медичний університет (м. Запоріжжя)

Дана робота є фрагментом НДР кафедри дитячих хвороб ФПО ЗДМУ «Особливості перебігу захворювань та розробка програм раціонального харчування, удосконалення лікувальних, реабілітаційних заходів і профілактики відхилень в стані здоров'я дітей різного віку, мешканців промислового міст», № держ. реєстрації 114U001397.

Вступ. Багато матерів, що палять, відмовляються годувати грудьми, вважаючи, що цим вони зменшують шкідливий вплив на дитину, хоча залишають малюків пасивними курцями. Однак, в останні роки наводиться все більше доказів того, що діти матерів-курців, які знаходяться на штучному вигодовуванні, більше страждають від пасивного табакопаління в порівнянні з тими дітьми, яких матері-курці продовжують вигодовувати груддю, тому що у грудному молоці знаходяться фактори, що захищають дитину від шкідливих впливів, в тому числі і тютюнового диму [4].

Жіноче молоко – дуже складна рідина, що складається з безлічі компонентів і виконує безліч функцій, збільшує можливості немовляти виробляти адекватну імунну відповідь. Воно містить широкий спектр чинників імунологічного захисту: макрофаги, Т-лімфоцити, імунокомпетентні В-лімфоцити, імуноглобуліни, специфічні до патогенів дитини. Антимікробний захист широкого спектра забезпечують ферменти лізоцим і лактоферин. Макрофаги жіночого молока продукують практично весь спектр інтерлейкінів (IL), які мають великий потенціал впливу на імунну систему, але їх значення ще недостатньо вивчено [5].

Одним з найдавніших в еволюційному плані вважається IL-1- α . IL-1- α забезпечує реалізацію захисту організму при різноманітних пошкоджуючих впливах. Стимуляторами синтезу його синтезу є різноманітні індуктори запалення (вірусні, бактеріальні, аутоімунні процеси, вплив фізичних факторів). Після виділення клітинами-продуцентами IL-1- α має короткий період напіввиведення з кровотоку. До 50% циркулюючих цитокінів інтерналізуються протягом 30 хвилин. IL-1- α має яскраво виражену імуностимулюючу дію, пов'язану зі збільшенням функціональної активності лімфоцитів і нейтрофілних лейкоцитів, володіє системною дією для приведення у відповідність запаленню метаболізм і регуляцію, насамперед, імунного захисту. Доведено, що у фізіологічних умовах IL-1- α здатний підвищувати активність

Th1-клітин-хелперів, визначаючи гіперреактивність імунної відповіді [2].

Разом з тим, вивчення концентрацій універсального прозапального цитокіну IL-1- α встановило підвищений його рівень в сироватці крові дорослих курців в порівнянні з тими, хто не палить [1]. Munoz (1990) визначив, що IL-1 α знаходився у великих концентраціях у молозиві. Відносно вмісту в молозиві та молоці жінки-курця цитокіну IL-1- α та його впливу на імунітет немовля при палінні матері немає однозначної відповіді [3,5].

Таким чином, імунотоксичність тютюнового диму не викликає сумніву, однак вплив табакопаління матерів-годувальниць на імунологічні реакції малюків вивчені недостатньо.

Мета дослідження – вивчення імунологічних змін у дітей матерів-курців.

Об'єкт і методи дослідження. Під наглядом перебувало 47 дітей віком від 8 до 12 міс., які перебували на лікуванні з приводу гострих респіраторних інфекцій у відділенні раннього віку міської багатопрофільної дитячої лікарні №5 м. Запоріжжя (головний лікар – Е. І. Токар) за період з 01.2013 по 05.2014. Ми порівняли показники імунограм 1-го рівня дітей, матері яких палили, розділивши їх на 2 групи. Діти дослідної групи (група № 1) отримували молоко матері (n=24), діти групи порівняння (група № 2) перебували на штучному вигодовуванні (n=23). Групи дітей не розрізнялись за віком – середній вік пацієнтів в основній групі складав 9,9 \pm 0,6 міс., у групі порівняння – 9,7 \pm 0,7 міс (p>0,05). Критерій виключення із дослідження – наявність первинних імунодефіцитних станів. Всім дітям в періоді ранньої реконвалесценції досліджували стан імунної системи методом прямого розеткоутворення з еритроцитами, вкритими моноклональними антитілами до CD3, CD4, CD8, CD16, CD19, CD25 (виробництво Вітебського медичного університету, м. Вітебськ, Білорусь); визначали тест відновлення нітросинього тетразолія («НСТ-тест спонтанний»), проводили розрахунок фагоцитарного числа, індекс завершеності фагоцитозу, визначали рівень IgA, IgG, IgM в плазмі крові методом радіальної імунодифузії в агарі по Mancini A. et al. (1965) на базі міської імунологічної лабораторії дитячої клінічної лікарні №1 (головний лікар – В. І. Ліхачова).

Порівнювали концентрації універсального прозапального цитокіну IL-1- α в молоці 120 жінок-годувальниць, розділивши їх на дві групи: перша група об'єднувала жінок-курців і жінок – пасивних

Таблиця 1
Порівняння показників фагоцитарної ланки імунітету

Показник	Референтні значення	Група 1 (n=24)	Група 2 (n=23)
		Me 25% – 75%	Me 25% – 75%
Фагоцитарний індекс	60-80	74,00 66,50-85,00	76,00 65,00-78,00
Фагоцитарне число	5-10	6,00 4,00-6,00	5,00 5,00-5,00
Індекс закінченості фагоцитозу	Більше 1	1,20 1,10-1,20	1,20 1,10-1,20
НСТ-тест спонтанний	12-26	15,50 11,00-32,00 *	21,00 14,00-32,00 *
Індекс НСТ-теста спонт.	0,2-1,1	0,35 0,25-0,65	0,50 0,30-0,60

Примітка: *p < 0,05.

Таблиця 2
Показники клітинної ланки імунітету

Показник	Референтні значення	Група 1 (n=24)	Група 2 (n=23)
		Me 25% – 75%	Me 25% – 75%
Лейкоцити, абс.	5,8-8,0	7,60* 6,65-10,10	9,00* 7,90-11,80
Лімфоцити, відносні	39-59	58,50 51,00-73,50	60,00 52,00-69,00
лімфоцити, абс.	2,26-4,72	4,37 3,78-6,28	5,44 4,66-6,49
СД3+, %	62-69	62,00 60,00-64,50	63,00 59,00-66,00
СД3+, абс.	1,4-3,30	2,71* 2,38-3,50	2,89* 2,91-4,03
СД4+, %	30-40	38,00 35,50-41,00	39,00 35,00-44,00
СД4+, абс.	0,7-1,9	1,69 1,49-2,16	1,96 1,69-2,77
СД8+, %	25-32	26,50 23,00-28,00	27,00 25,00-28,00
СД8+, абс.	0,60-1,50	1,18* 0,97-1,51	1,52* 1,37-1,70
СД4/СД8	1,2-1,3	1,40 1,30-1,60	1,50 1,20 – 1,60
СД19+, %	21-28	28,00* 25,00-29,00	29,00* 26,00-34,00
СД19+, абс.	0,50-1,30	1,12* 0,93-1,46	1,55* 1,36-2,12
СД16+, %	8-15	22,50 19,00-26,00	23,00 20,00-29,00
СД16+, абс.	0,18-0,70	0,99* 0,70-1,25	1,45* 1,29-1,80
СД25+, %	8-12	22,00 18,00-26,00	27,00 22,00-29,00
СД25+, абс.	0,18-0,56	1,07* 0,84-1,35	1,46* 1,12-1,78
СД95+, %	10-45	26,50* 24,00-28,50	30,00* 26,00-33,00
СД95+, абс.	0,23-2,13	1,21* 0,91-1,17	1,54* 1,31-2,08

Примітка: *p < 0,05.

курців (n=46), до другої групи увійшли жінки, які не палять самі і в родинях яких не палять (n=74). Всі жінки на момент обстеження вважали себе здоровими. Термін лактації складав від 3-х до 12 місяців.

Жінками – курцями вважали тих, що палять понад 5 цигарок щоденно протягом щонайменше 5 років. Молоко збирали ранком через 1 годину після паління цигарки.

IL-1-α визначали методом імуноферментного аналізу за допомогою поліклональних антитіл, специфічних до IL-1-α імуноферментним набором Кат. №BMS243/2 HumanIL-1 alpha Platinum ELISA Bender Med System.

Для статистичної обробки використовували програму «Statistica – 2006» (StatSoftInc., №AХХR712D833214FAN5). Оцінки показників проводили описовим методом (медіана (Me), межі квартильних відрізків | 25% – 75% |); порівняння двох незалежних груп проводили за допомогою U критерію Манна-Уїтні, достовірність вважали наявною при p < 0,05.

Результати досліджень та їх обговорення. Визначення рівня прозапального IL-1-α в молоці жінок-курців і жінок-пасивних курців статистично достовірно (U=1357,5, Z=1,96, p<0,05) підтвердило факт збільшення його синтезу у порівнянні з вмістом в молоці матерів, які не палять. За результатами дослідження рівень IL-1-α в жіночому молоці матерів першої групи склав 0,31 | 0,21-0,49 | (нг/мл), у матерів другої групи – 0,21 | 0,00 – 0,49 | (нг/мл).

Отже, відпрацьовуючи гіпотезу про можливе збільшене «стимулювання» імунної відповіді завдяки прозапальному IL-1-α, який міститься у жіночому молоці матерів-курців годувальниць, на наступному етапі дослідження аналізували імунну відповідь дітей пасивних курців, яким збережене природне вигодовування, в періоді ранньої реконвалесценції після перенесеного гострого респіраторного захворювання за умов відсутності інфекта.

Визначили, що система природженої резистентності характеризувалась статистично достовірним перевищенням верхньої межі норми кількості лейкоцитів у дітей групи №2, ніж у дітей групи №1, однаковим рівнем поглинальної активності фагоцитів в обох групах пацієнтів та більш активними метаболічними процесами (НСТ-тест), які відбувались

всередині фагоцитуючих клітин, у групі порівняння – малюків, які не отримували материнського молока (**табл. 1**).

У дітей групи порівняння виявлена підвищена кількість лімфоцитів, які експресують рецептори готовності до апоптозу (стану, що передує запрограмованій загибелі імуніцитів): рівень СД95+ був достовірно вищим як в абсолютній кількості (21,43%), так і у відносній (11,67%) в порівнянні з групою №1 (**табл. 2**), що, враховуючи період ранньої реконвалесценції дітей, не виключає один з механізмів виникнення вторинних імунодефіцитних станів.

Таблиця 3

Показники гуморальної ланки імунітету

Показник	Референтні значення	Група 1 (n=24)	Група 2(n=23)
		Ме 25% – 75%	Ме 25% – 75%
Сироваткові gG, мг/мл	5,90-8,30	5,91 5,10-7,07	7,30 5,10-8,76
Сироваткові IgA, мг/мл	0,60-1,00	0,55 0,41-0,57	0,55 0,41-0,72
Сироваткові IgM, мг/мл	0,60-1,00	1,27 1,18-1,68	1,27 1,10-1,89

Серед пов'язаних закономірностей визначили підвищення за норму показника імунорегуляторного індексу (табл. 2), що є співвідношенням рівнів CD4⁺ до CD8⁺ Т-лімфоцитів. Рівень цього показника у періоді реконвалесценції був вище референтних значень, незважаючи на підвищення за верхню межу норми абсолютної кількості CD8⁺ Т-клітин (кілерів), та виявився на 22,37% вищим у малюків групи порівняння, ніж у пацієнтів групи спостереження (p<0,05), що може свідчити про неадекватність імунної відповіді у дітей групи №2.

Гуморальна ланка імунітету, яка є переважаючою при бактеріальних інфекціях із позаклітинним перебуванням патогену, у дітей групи №2 характеризувалась достовірно збільшеною відносною і абсолютною (на 27,74%) кількістю CD19⁺ як у порівнянні з дітьми основної групи, так і з показниками референтних значень.

Однотимчасне збільшення CD19⁺ та абсолютної кількості (на 13,78%) CD4⁺ Т-лімфоцитів відображає Т-залежний процес синтезу антитіл. Зміни концентрацій сироваткових імуноглобулінів IgA, IgM в обох групах не мали статистично значимих

розбіжностей. Загальні тенденції до збільшення вмісту IgM та дефіциту IgA, вірогідніше, відображали прояви вікових особливостей. Відносно концентрації сироваткового IgG у малюків групи №2 спостерігали тенденцію до її збільшення (на 23,51%) порівняно з показниками пацієнтів групи №1 (табл. 3).

Висновки.

1. Визначений статистично достовірний (p<0,05) вищий рівень прозапального IL-1-α в молоці матерів-курців – 0,31 |0,21-0,49| (пг/мл).

2. Встановили підвищений прозапальний потенціал імунної реактивності (за рахунок збільшення рівня лейкоцитів, НСТ-теста, імунорегуляторного індексу, Т лімфоцитів: CD8⁺, CD19⁺, CD25⁺, сироваткових IgG) (p<0,05) в періоді ранньої реконвалесценції за умов пасивного паління дітей, які знаходились на штучному вигодовуванні, порівняно з дітьми пасивними курцями, що вигодовувались природньо.

3. Природнє вигодовування, незважаючи на підвищений рівень прозапального IL-1-α в молоці матерів-курців, дозволяє зменшити напругу гіперреактивної імунної відповіді у дітей, які знаходяться в умовах пасивного паління.

Перспективи подальших досліджень. Отриманні результати спонукають до вивчення механізмів зменшення гіперреактивної імунної відповіді при природньому вигодовуванні у дітей, які зростають в умовах пасивного паління, та можуть використовуватись для профілактики паління у жінок.

Література

1. Fernando M. Botelho. IL-1α/IL-1R1 Expression in Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Mechanistic Relevance to Smoke-Induced / Fernando M. Botelho, Carla M. T. Bauer, Donna Finch [et al.] // Neutrophilia in Mice Published. – 2011. – DOI: 10.1371/journal.pone.0028457.
2. Sims John E. The IL-1 family: regulators of immunity Nature Reviews // Sims John E., Smith Dirk E. // Immunology. – 2010. – Vol. 10. – P. 89-102.
3. Szlagatys-Sidorkiewicz A. The Cytokine Profile of Mature Milk from Smoking and Non-smoking Mothers / A. Szlagatys-Sidorkiewicz, E. Woś, E. Aleksandrowicz [et al.] // Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. – 2012. – Vol. 10. – P. 2-18.
4. Weiser T. M. Association of maternal smoking status with breastfeeding practices / T. M. Weiser, M. Lin, V. Garikapaty [et al.] // Pediatrics. – 2009. – Vol. 124, №6. – P. 1603-1610.
5. Zanardo V. Effect of maternal smoking on breast milk interleukin-1alpha, beta-endorphin, and leptin concentrations and leptin concentrations. / V. Zanardo, S. Nicolussi, S. Cavallin // Environ Health Perspect. – 2005. – Vol. 113, № 10. – P. 1410-1413.

УДК 616-097-053. 2: 613. 64-055. 26

ОСОБЛИВОСТІ ІМУННИХ РЕАКЦІЙ ДІТЕЙ ПРИ ПРИРОДНЬОМУ ВИГОДОВУВАНІ МАТЕРЯМИ, ЩО ПАЛЯТЬ

Боярская Л. Н., Герасімчук Т. С., Котлова Ю. В.

Резюме. Залишається відкритим питання про раціональність годування грудним молоком жінками, які курять. Мета роботи – вивчення імунологічних змін у дітей матерів-курців при природньому і штучному вигодовуванні на підставі аналізу імунологічних досліджень у 47 немовлят і визначенні ролі прозапального IL-1-α в молоці 120 матерів при палінні. Встановили імунний дисбаланс із збільшенням показників вродженої і специфічної імунної відповіді, які були більш значимими у дітей-пасивних курців при штучному вигодовуванні.

Незважаючи на прозапальний ефект IL-1- α материнського молока у матерів-курців, воно має протективну дію на імунну відповідь малюків і дозволяє зменшити у них напругу гіперреактивності імунної відповіді в умовах пасивного куріння.

Ключові слова діти, імунітет, пасивне куріння, природне вигодовування.

УДК 616-097-053. 2:613. 64-055. 26

ОСОБЕННОСТИ ИММУННЫХ РЕАКЦИЙ ДЕТЕЙ, КОТОРЫЕ ВСКАРМЛИВАЮТСЯ КУРЯЩИМИ МАТЕРЯМИ

Боярская Л. Н., Герасимчук Т. С., Котлова Ю. В.

Резюме. Остается открытым вопрос о рациональности кормления грудным молоком женщинами, которые курят. Цель работы – изучение иммунологических изменений у детей матерей-курильщиц при естественном и искусственном вскармливании на основании анализа иммунологических исследований у 47 младенцев и определения роли провоспалительного IL-1- α в молоке 120 матерей при курении. Установили иммунный дисбаланс с увеличением показателей врожденного и специфического иммунного ответа, которые были более значительными у детей-пассивных курильщиков при искусственном вскармливании. Несмотря на провоспалительный эффект IL-1- α материнского молока у матерей курильщиц, оно имеет протективное действие на иммунный ответ малышей и позволяет уменьшить у них напряжение гиперреактивного иммунного ответа в условиях пассивного курения.

Ключевые слова: дети, иммунитет, пассивное курение, естественное вскармливание.

UDC 616-097-053. 2:613. 64-055. 26

Immunoreaction Features of Children, Fed by Mothers-smokers

Boyarskaya L. N., Herasimchuk T. S., Kotlova Yu. V.

Abstract. Introduction. Breastfeeding of babies with mothers-smokers leaves many controversial questions. Macrophages of human milk produce whole range of interleukins (IL) which has a high potential impact on the immune system. IL-1- α has a distinct immunostimulatory effect, that causes the immune defense system with a level of inflammation. Under physiological conditions, IL-1- α is able to detect hyperreactivity immune response. The increasing proinflammatory cytokine IL-1- α in serum of adult smokers. There is no clear answer to the content in colostrum and milk of women smokers cytokine IL-1- α and its impact on infant immune smoking mothers.

The aim – to study the immunological changes in children of mothers-smokers.

Object and methods. Tested the hypothesis of a possible increased «stimulate» the immune response with proinflammatory IL-1- α , which is contained in human milk of mothers nursing-smokers. Compared concentrations of IL-1- α in the milk of 120 lactating women: the first group comprised women smokers and women – passive smokers (n=46), the second group included women who do not smoke themselves and the families that do not smoke (n=74).

Mothers-smokers considered smokers more than 5 cigarettes daily for at least 5 years. Milk was collected in the morning 1 hour after smoking cigarettes. IL-1- α were determined by ELISA analysis using polyclonal antibodies to IL-1- α ELISA set Cat. Number VMS243 / 2 HumanIL-1 alpha Platinum ELISA Bender Med System. The next phase of the study was analyzing the immune responses of passive smokers who saved breastfeeding in the early period of convalescence after acute respiratory illness. We studied the immunological 1-st level 47 children aged 8 to 12 months babies whose mothers were smoked. Children experimental group (group № 1) receiving mother's milk (n=24), children of the comparison group (group № 2) were bottle-fed (n=23). The criterion of exclusion from the study – the availability of primary immunodeficiencies. For statistical treatment used the program «Statistica – 2006» (StatSoftInc., № AXXR712D833214FAN5). Evaluation of conducted descriptive method (median (Me), limits quarterly segments | 25% -75% |); comparing two independent groups was performed using U-criterion Mann-Whitney, reliability considered available at $p < 0.05$. Designated statistically significant ($p < 0.05$) higher levels of proinflammatory IL-1- α in the milk of mothers smokers – 0,31 | 0,21-0,49 | (pg / ml).

Installed increased proinflammatory potential of immune reactivity (by increasing the level of white blood cells, NBT-test, immunoregulatory index, T lymphocytes: CD8 +, CD19 +, CD25 +, serum IgG) ($p < 0.05$) during early convalescence under conditions of passive smoking children were bottle-fed compared with children passive smokers that vyhodovuvayals naturally. Breastfeeding, despite elevated levels of proinflammatory IL-1- α in the milk of mothers smokers can reduce stress hyperreactive immune response from children that are living in conditions of passive smoking.

Keywords: children, immunity, passive smoking, breast-feeding.

Рецензент – проф. Траверсе Г. М.

Стаття надійшла 19. 12. 2014 р.