

*Н.В. Гребенюк¹
В.Ф. Мислицький
С.М. Ващук¹*

Буковинський державний медичний
університет
¹Херсонський медичний базовий коледж

РЕАКТИВНІСТЬ ОРГАНІЗМУ ДІТЕЙ, НАРОДЖЕНИХ ЖІНКАМИ, ЯКІ В ПЕРІОД ВАГІТНОСТІ ПРОЖИВАЛИ В ЕКОЛОГІЧНО НЕСПРИЯТЛИВИХ УМОВАХ

Ключові слова: діти, інфекції
внутрішньоутробні і постнатальні,
імунітет клітинний, гуморальний.

Резюме. Наведені результати вивчення окремих показників клітинного та гуморального імунітету дітей у віці від трьох місяців до одного року, народжених жінками, що в період вагітності проживали в екологічно несприятливих умовах. Досліджені кількісні та якісні зміни показників імунологічного гомеостазу дітей, які страждали на перинатальні інфекції.

Вступ

Зміна соціально-економічної формації внаслідок розпаду СРСР супроводжувалася масштабною і системною демографічною кризою, в розвитку якої важлива роль належить екологічно-гігієнічним факторам. Спостерігається падіння рівня середньої тривалості життя, суттєве збіль-

шення смертності, зниження народжуваності, збільшення перинатальної захворюваності і смертності [1,2,3]. В Україні забруднення середовища проживання значно перевищує середньосвітові, що безумовно відбивається на здоров'ї новонароджених та дітей переддошкільного періоду (1-3 роки).

© Н.В. Гребенюк, В.Ф. Мислицький, С.М. Ващук. 2007

Мета дослідження

Вивчити вплив внутрішньоутробної та постнатальної інфекції на реактивність організму дітей у віці від трьох місяців до одного року, народжених жінками, що в період вагітності проживали в екологічно несприятливих умовах.

Матеріал і методи

Обстежено 26 дітей у віці від трьох місяців до одного року, які страждали на перинатальні інфекції і знаходилися на лікуванні в Херсонській обласній дитячій лікарні.

Вони були поділені на дві підгрупи. У першу ввійшли десятеро дітей, що страждали на внутрішньоутробні інфекції, в другу - 16 дітей, хворих на постнатальні інфекції.

За норму приймали дані, отримані при обстеженні 12 здорових дітей.

Усім дітям проведені визначення окремих показників імунного статусу, які виконувалися з однієї порції гепаринізованої венозної крові. Кров, за згодою матерів, забирали з ліктьової вени.

У всіх дітей були проведені наступні дослідження.

1. Кількісне визначення Т-лімфоцитів методом спонтанного розеткоутворення з еритроцитами барана (Е-РУК) за М.Джондалом у модифікації [4,5].

2. Визначення Т-активних лімфоцитів (Еа-РУК), які утворюють розетки з еритроцитами барана. Хід визначення аналогічний попередньому, за винятком тривалої холодової інкубації.

3. Визначення В-лімфоцитів методом розеткоутворення в системі ЕАС - еритроцит барана + антиген (IgM) + комплімент (C3).

4. Функціональну активність лімфоцитів оцінювали за реакцією бласттрансформації (РБТЛ) на неспецифічні мітогени: фітогемаглютинін (ФГА), конканавалін А (Кон-А) імітоген лаконоса (PWM).

5. Імуноглобуліни класів IgG, IgM, IgA визначали за методом одномірної радіальної імунодифузії в агаровому гелі [4,5].

6. Визначення субпопуляцій лімфоцитів проводили за допомогою вітчизняних антилімфоцитарних тіл (НДІ імунології), методом непрямої імуофлуорисценції.

Суспензію лімфоцитів отримували за [4]. Змішували 0,05 мл суспензії лімфоцитів і 0,005 мл відповідних моноклональних антитіл. Суміш інкубували при + 4°C упродовж 30 хв. Після інкубації клітини відмивали в повному ростовому середовищі (ПРС), центрифугуванням (1000 об/хв./5хв). До осаду додавали 0,05 мл люмінесцентної сироватки, інкубуючи 30 хв при + 4°C. Після цього двічі відмивали у 2 мл ПРС. Для фіксації до осаду

додавали 0,1 мл 2% параформу й інкубували 30 хв при + 4°C. Клітини відмивали у 2 мл ПРС і наносили осад на скло. Під мікроскопом підраховували клітини, що світилися.

Статистичне опрацювання результатів досліджень проводили за допомогою стандартних методів варіаційного аналізу із застосуванням програм STATISTICA 6.0 for Windows 98. Для оцінки міжгрупової різниці користувалися параметричним критерієм Стюдента.

Обговорення результатів дослідження

У дітей у віці від трьох місяців до одного року, які страждали на перинатальні інфекції, загальна популяція Т-лімфоцитів характеризувалася вірогідним зниженням як відносною так і абсолютною кількістю лімфоцитів в обох обстежуваних підгрупах.

При визначенні Та-лімфоцитів виявлені вірогідні розходження ($p < 0,05$) між підгрупами (табл. 1). У дітей із внутрішньоутробною інфекцією вміст Еа-РУК практично не відрізнявся від норми і складав $35,8 \pm 19\%$, $p > 0,05$, тоді як при постнатальній інфекції цей показник сягав $42,17 \pm 1,9$ і вірогідно ($p < 0,05$) перевищував нормальні значення. У дітей із постнатальною інфекцією абсолютний вміст Еа-РУК не відрізнявся від контролю, а при внутрішньоутробній був зниженим ($p < 0,05$). Вірогідне збільшення відносного вмісту Та-лімфоцитів свідчить про наявність постнатального інфекційно-запального процесу й може слугувати критерієм у диференційній діагностиці внутрішньоутробних і постнатальних інфекцій.

Незалежно від часу інфікування відзначалося підвищення як відносного, так й абсолютного ЕАС-РУК ($p < 0,05$), при цьому простежувалася певна тенденція до збільшення ЕАС-РУК при постнатальному інфікуванні.

Розподіл субпопуляцій лімфоцитів, визначений за допомогою моноклональних антитіл (табл.2) показав зниження СД3 - ($p < 0,05$) і СД4 фракцій лімфоцитів в обох підгрупах. Ці зміни були вірогідними і не залежали від строків інфікування. Рівень субпопуляції СД8 був вірогідно ($p < 0,05$) підвищений в обох підгрупах. Такі зміни в складі субпопуляцій лімфоцитів різко знизили індекс СД4/СД8, при цьому в дітей із внутрішньоутробною інфекцією цей показник був вірогідно нижчим ($1,59 \pm 0,12$, $p < 0,01$), ніж при постнатальній інфекції.

У цій підгрупі відмічене різке зростання вмісту нормальних кілерів - майже в чотири рази проти контролю. Кількісні зміни Т-клітинної ланки імунітету були приблизно однаковими в дітей із внутрішньоутробною й постнатальною інфекцією, за певної тенденції до більш виражених зрушень у внутрішньоутробно інфікованих дітей.

Характеристика деяких показників імунної системи хворих дітей у віці до 1 року (II група) (M±m)

Підгрупи дітей	Е-РУК (Т-лімфоцити)		Еа-РУК (Та-лімфоцити)		ЕАС-РУК (В-лімфоцити)		РБТЛ (індекс стимуляції)			Імуноглобуліни (г/л)			
	%	10 ⁹ /л	%	10 ⁹ /л	%	10 ⁹ /л	спонт	ФГА	КонА	PWM	G	M	A
1 підгрупа n=10	49,50± 2,66**	1,83± 0,26**	35,80± 1,85#	1,177± 0,186*	18,80± 3,21*	0,678± 0,127*	587,0± 72,5##	60,87± 15,47* ##	11,91± 3,45** #	14,81± 5,58** #	6,33± 0,22#	1,04± 0,04	0,41± 0,03#
2 підгрупа n=16	51,87± 2,21**	1,69± 0,24*	42,17± 1,9*	1,518± 0,193	21,87± 1,49*	0,686± 0,109*	3306,0± 101,4**	15,84± 1,24**	17,71± 6,61*	6,95± 2,23**	13,67± 1,08*	1,02± 0,09	1,47± 0,06**
Здорові діти n=12	59,30± 0,9	2,683± 0,056	36,8± 1,7	1,603± 0,071	15,6± 0,7	0,694± 0,025	<1000	48,20± 4,48	22,1± 3,48	43,4± 3,58	3,50 – - 1,0	0,28 – - 1,41	0,16 – - 0,67

Примітка.

Вірогідність розходжень із нормою: *p<0,05; ** p<0,01

Вірогідність розходжень між підгрупами: # p<0,05; ## p<0,01

Е -еритроцит

РУК - розеткоутворювальні клітини

Та - активні Т-лімфоцити, що утворюють розетки з еритроцитами барана безпосередньо

ЕАС - еритроцит + антиген (IgM) + комплімент (С3)

РБТЛ - реакція бласттрансформації лімфоцитів на неспецифічні антигени

ФГА - фітогемаглютинін

КонА - конкавалін А

PWM-реакція на мітоген лактоноса

Таблиця 2

Розподіл субпопуляцій лімфоцитів периферійної крові дітей у віці до 1 року за даними моноклонального дослідження (M±m,%)

Підгрупи дітей	СД3 (загальна популяція Т-лімфоцитів)	СД4 (Т-хелпери)	СД8 (Т-супресори)	СД4/СД8	СД22 (В-лімфоцити)	НК (натуральні кілери)
1 підгрупа n=10	52,67±17,03*	38,00±11,93*	23,67±9,13*	1,59±0,12** #	16,67±6,22*	19,00±6,57**
2 підгрупа n=16	54,13±7,07*	40,13±5,96*	21,00±3,35**	1,91±0,34**	18,13±2,91*	20,33±8,11**
Здорові діти n=12	64,6±3,4	54,4±1,8	18,60±1,4	2,93±0,18	12,70±0,47	8,7±1,3

Примітка.

Вірогідність розходжень із нормою: *p<0,05; ** p<0,01
Вірогідність розходжень між підгрупами: # p<0,05; ## p<0,01
СД - позначення скупчення поверхневих маркерів

В якості додаткового диференційно-діагностичного критерію внутрішньоутробної інфекції можна використати імунорегуляторний індекс СД4/СД8, який при постнатальному інфікуванні знижувався не так значно, як при внутрішньоутробному.

Склад СД22 - був підвищений в обох підгрупах, але найбільш суттєво (18,13±2,91, p<0,05) у підгрупі постнатально інфікованих (табл.2), що корелює з більш високим вмістом ЕАС-РУК (21,0±3,35%, p<0,01) у цій підгрупі (табл. 1).

Функціональну активність лімфоцитів досліджували в реакції бласттрансформації. Заслугує на увагу різко підвищена спонтанна проліферативна активність лімфоцитів у дітей, інфікованих постнатально (3306,0±101,4, p<0,01). Відповідь на фітогемаглютинін, була вищою від нормальних показників, у дітей із внутрішньоутробною інфекцією й вірогідно нижчою в групі постнатально інфікованих (табл. 1).

Реакція на КонА була знижена в обох підгрупах, але найбільш значимі зміни відзначені в підгрупі внутрішньоутробно інфікованих, при цьому розбіжності між підгрупами були статистично вірогідними (p<0,05). Різка пригнічення відповіді на РWM також було характерним для обох підгруп, але при постнатальній інфекції цей показник був вірогідно нижчим ніж при внутрішньоутробній інфекції (p<0,05) і склав усього 6,95±2,23, p<0,01 (табл. 1).

При постнатальному інфекційно-запальному процесі незважаючи на високу спонтанну проліферативну активність, спостерігалось зниження реакції БТЛ на всі мітогени, особливо на ФГА та РWM. У групі внутрішньоутробно інфікованих дітей тільки ФГА давав високий індекс стимуляції.

Висока вірогідність розходжень цих показників між підгрупами дозволяє використати їх в якості диференціально-діагностичних критеріїв внутрішньо-утробної та постнатальної інфекції.

Аналіз вмісту імуноглобулінів показав вірогідне збільшення IgG і IgA в групі дітей, які страждали на постнатальні інфекції.

Результати вивчення гуморальної ланки імунітету свідчать про його високу функціональну активність у дітей із постнатальним інфекційно-запальним процесом. Цей факт може бути використаний як додатковий критерій диференційної діагностики внутрішньоутробних та постнатальних інфекцій.

Висновки

1. Внутрішньоутробні інфекції ведуть до більш вираженого зниження реактивності організму дітей у порівнянні з постнатальними інфекціями.

2. Імунорегуляторний індекс СД4/СД8 та реакцію бласттрансформації лімфоцитів можна використовувати в якості диференціальних ознак при різних формах перинатальних інфекцій.

Перспективи подальших досліджень

Буде вивчений стан імунного гомеостазу в дітей віком від одного до трьох років, матері яких під час вагітності проживала в екологічно несприятливих умовах.

Література. 1. Бенюк В.О. Прогнозування, діагностика та профілактика перинатальної патології у вагітних з недоношуванням: Автореф. дис. д-ра мед.наук. - К., 2001. - 35с. 2. Буданов П.В., Баев О.Р., Пашков В.М. Нарушення мікроценоза влагалища // Вопр. гинекол., акушерства и перинатол., - 2005. - Т.4. №2. С. 78-88. 3. Булак Г.В. Особливості картини крові недоношених дітей при внутрішньоутробних бактеріальних інфекціях. / Внутрішньоутробні інфекції новонароджених. // Мат. Конгресу неонатологів України. Харків. - 1998. - С.32-34. 4. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. Меньшикова В.В. - М., Медицина, 1987. - 368с. 5. Иммунологические методы исследования: Пер. с англ./ Под ред. Лефковитса И., Пернуса Б. - М.: Мир. 1988. 530с. 6. Особливості і семіотика захворювань дитячого віку: Навчально-методичний посібник / За ред. Сміяна І.С., Майданика В.Г. - Тернопіль - Київ, 1999. - 146с. 7. Peakman M., Vergani D., Basic and clinical immunology. - New York, Edinburg, London, Madrid, Melburn, San Francisco and Tokyo: Churchill Livinstone. 1997. - 338p.

**РЕАКТИВНОСТЬ ОРГАНИЗМА ДЕТЕЙ,
РОЖДЕННЫХ ЖЕНЩИНАМИ, КОТОРЫЕ В
ПЕРИОД БЕРЕМЕННОСТИ ПРОЖИВАЛИ В
ЭКОЛОГИЧЕСКИ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ
УСЛОВИЯХ**

Н.В. Гребенюк, В.Ф. Мыслицкий, С.Н. Ващук

Резюме. Изложены результаты изучения отдельных показателей клеточного и гуморального иммунитета детей в возрасте от трех месяцев до года, рожденных женщинами, проживающими в период беременности в экологически неблагоприятных условиях. Исследованы количественные и качественные показатели иммунного гомеостаза детей, страдающих перинатальными инфекциями.

Ключевые слова: дети, инфекции внутриутробные, постнатальные, иммунитет клеточный, гуморальный.

**BODY REACTIVITY OF CHILDREN BORN BY THE
WOMEN, WHO LIVED UNDER ECOLOGICALLY
UNFAVOURABLE CONDITIONS DURING
PREGNANCY**

N.V. Grebeniuk, V.F. Myslytsky, S.N. Vashchuk

Abstract. The results of studying separate indices of cellular and humoral immunity children at the age from 3 months to one year, born by the women who lived under ecologically unfavourable conditions during pregnancy have been stated. The qualitative and quantitative indices of immune homeostasis of children suffering from perinatal infectious have been investigated.

Key words: children, fetal infection, postnatal, cellular immunity, humoral.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2007. - Vol. 6. №3. - P.24-28.

Надійшла до редакції 16.08.2007

Рецензент - проф. С.С. Ткачук