

Влияние грудного вскармливания на онтогенез мукозального иммунитета у детей

Т.Г. Маланичева¹, Е.В. Агафонова^{1, 2}, Ч.И. Ашрафуллина³

¹ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Казань, Россия;

²ФБун «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Казань, Россия;

³ГАУЗ «Детская республиканская клиническая больница» Минздрава Республики Татарстан, Казань, Россия

Influence of breastfeeding on the ontogenesis of mucosal immunity in children

T.G. Malanicheva¹, E.V. Agafonova^{1, 2}, Ch.I. Ashrafullina³

¹Kazan State Medical University, Kazan, Russia;

²Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Kazan, Russia;

³Children's Republican Clinical Hospital, Kazan, Russia

Проведена оценка роли грудного вскармливания в программировании онтогенеза клеточного звена мукозального иммунитета, антимикробных стратегий нейтрофилов и локального цитокинового статуса. В одноцентровое проспективное открытое неконтролируемое исследование включены здоровые младенцы, которые находились на естественном и искусственном вскармливании. Основную группу составили практически здоровые дети, находящиеся в течение первого года жизни на грудном вскармливании: 36 детей обследованы в первый временной интервал (этап) и 25 детей из этой группы — во второй временной интервал (этап). Группу сравнения составили дети, получающие адаптированную молочную смесь на основе цельного белка коровьего молока формулу 1 в первом полугодии жизни, и формулу 2 — во втором полугодии: 31 ребенок обследован в первый временной интервал (этап) и 27 детей из этой группы — во второй временной интервал (этап). Проводили комплексное исследование мукозального иммунитета с оценкой цитокинового профиля и клеточной составляющей с использованием метода мазков-отпечатков со слизистой оболочки полости носа. Выявлено, что характер вскармливания на первом году жизни влияет на формирование мукозального иммунитета и программирует постнатальный онтогенез иммунологической реактивности ребенка. В отсутствие иммуномодулирующего действия грудного молока отмечается дисбаланс цитокинового профиля с сохранением физиологической девиации иммунного ответа, связанной с превалированием профиля Th2. На фоне грудного вскармливания формируется оптимальный клеточный состав слизистой оболочки верхних дыхательных путей и цитоморфологический профиль нейтрофилов с минимальными деструктивными изменениями. Вскармливание грудным молоком программирует оптимальный функциональный профиль нейтрофилов, включая уровень рецепторной активности, внутриклеточной бицидности, цитотоксичности, способности к завершению фагоцитозу. Естественное вскармливание младенца оказывает долговременное протективное влияние, предупреждая деструкцию нейтрофилов под воздействием эндоэкологии и персистенции респираторных вирусных агентов и обеспечивая оптимальный онтогенез мукозального иммунитета респираторного тракта.

Ключевые слова: дети, грудное вскармливание, клеточный мукозальный иммунитет.

Для цитирования: Маланичева Т.Г., Агафонова Е.В., Ашрафуллина Ч.И. Влияние грудного вскармливания на онтогенез мукозального иммунитета у детей. Рос вестн перинатол и педиатр 2024; 69(5): 37–44. DOI: 10.21508/1027-4065-2024-69-5-37-44

The role of breastfeeding in the development of the cellular immune system, antimicrobial strategies of neutrophils, and local cytokine levels was evaluated in a single-center, prospective, open-label, uncontrolled study of healthy infants who were either naturally or artificially breastfed. The main group included practically healthy children who were exclusively breastfed for the first year of life. Thirty-six children were examined during the first stage and 25 from this group during the second stage. The comparison group included children who received an adapted cow's milk formula during the first half-year of their lives and a different formula during the second half-year. Thirty-one children were examined during stage one and 27 from this group were examined during stage two. A comprehensive study of mucosal immunity was conducted, assessing the cytokine profile and cellular components using the method of smear prints from the nasal mucosa. The results showed that the nature of feeding during the first year of life influences the formation of mucosal immunity and programming the postnatal development of the child's immunological reactivity. In the absence of the immunomodulatory effects of breast milk, there is an imbalance in the cytokine profile, with a physiological deviation of the immune response linked to the predominance of Th2 profiles. In contrast, breastfeeding promotes the optimal cellular composition of the upper respiratory mucosa and a cytomorphological neutrophil profile with minimal destructive changes. Breastfeeding programs the optimal functional profile of neutrophils, including the level of receptor activity, intracellular biocidal activity, cytotoxicity, ability to complete phagocytosis. This natural infant feeding method has a long-term protective effect, preventing neutrophil destruction under the influence of environmental factors and respiratory viral agents, and ensuring optimal mucosal immunity development in the respiratory tract.

Key words: children, breastfeeding, cellular mucosal immunity.

For citation: Malanicheva T.G., Agafonova E.V., Ashrafullina Ch.I. Influence of breastfeeding on the ontogenesis of mucosal immunity in children. Ros Vestn Perinatol i Peditr 2024; 69(5): 37–44 (in Russ). DOI: 10.21508/1027-4065-2024-69-5-37-44

© Коллектив авторов, 2024

Адрес для корреспонденции: Маланичева Татьяна Геннадьевна — д.м.н., проф. кафедры пропедевтики детских болезней и факультетской педиатрии Казанского государственного медицинского университета, ORCID: 0000-0002-7027-0319

Агафонова Елена Валентиновна — к.м.н., асс. кафедры пропедевтики детских болезней и факультетской педиатрии Казанского государственного

медицинского университета, зав. клинико-диагностической лабораторией Казанского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, ORCID: 0000-0002-4411-8786

420012 Казань, ул. Бутлерова, д. 49

Ашрафуллина Чулпан Ильдаровна — зав. педиатрическим отделением №1 Детской республиканской клинической больницы, 420138 Казань, ул. Оренбургский тракт, д. 140

В формировании иммунной системы ребенка особое влияние оказывает характер вскармливания на первом году жизни. Материнское молоко — ключевой биологический продукт, не только обеспечивающий полноценную потребность детей в основных пищевых ингредиентах, но и создающий основу иммунологической резистентности. В современных условиях грудное молоко матери рассматривается как новый «иммунный орган» ребенка, не только обеспечивающий пассивный иммунитет детей раннего возраста, но и выступающий как важнейший фактор, влияющий на онтогенез иммунной системы в целом [1, 2]. В научной литературе активно обсуждается явление «микрохимеризма», определяемого грудным вскармливанием младенцев и играющего по современным представлениям ключевую роль в программировании развития иммунной системы ребенка. «Микрохимеризм» (встраивание иммунных клеток матери в органы ребенка), вызванный грудным вскармливанием, может играть ключевую роль в становлении типов иммунного ответа и защите от инфекционных заболеваний на протяжении всей последующей жизни [3].

Роль грудного вскармливания в онтогенезе гуморального звена иммунитета (иммуноглобулины, лактоферрин, лизоцим, комплемент и его компоненты, лактопероксидаза) хорошо изучена. Вместе с тем вопросы программирования иммунитета в аспекте явлений «микрохимеризма» остаются открытыми [4]. Роль грудного вскармливания в программировании формирования системы MALT (мукозоассоциированной лимфоидной ткани) и клеточной составляющей системы мукозального иммунитета, влиянии на онтогенез, а также на «резидентные» клетки и антимикробные стратегии клеточных элементов изучена недостаточно.

Мукозальный иммунитет слизистых оболочек и кожи, иммунитет барьерных тканей привлекает особое внимание исследователей в педиатрии. Это обусловлено тем, что большинство иммунных ответов происходит именно в барьерных тканях, которые находятся под непрерывной антигенной нагрузкой. Показано, что дисфункции местного иммунитета, в первую очередь дефицит sIgA, лежат в основе многих хронических воспалительных заболеваний слизистых оболочек и способствуют развитию аллергических заболеваний [5]. «Резидентные» клетки мукозального иммунитета могут участвовать в быстром ответе на патогены путем секреции цитокинов и интерлейкинов, обладающих антиинфекционными и противовоспалительными свойствами [6]. Крайне важной составляющей системы местного иммунитета являются нейтрофилы, играющие ключевую роль в формировании первой линии защиты организма ребенка от инфекций. Нейтрофилам и их секреторным продуктам принадлежит ведущая роль в регуляции микробиоценоза слизистых оболочек дыхательных путей [7].

Исходя из изложенного цель данного исследования — оценка роли грудного вскармливания в программировании онтогенеза клеточного звена мукозального иммунитета, антимикробных стратегий нейтрофилов и локального цитокинового статуса.

Характеристика детей и методы исследования

В одноцентровое проспективное открытое неконтролируемое исследование включены здоровые младенцы, которые находились на естественном и искусственном вскармливании. Исследование проводилось на основании разрешения локального этического комитета КГМУ, протокол №14 от 09.03.2020 г. От родителей детей получено информированное согласие на участие. Исследование проводилось на базе 3-го корпуса ДРКБ МЗ РТ, а также клинко-диагностической лаборатории ФБУН КНИИЭМ Роспотребнадзора г. Казани в период с 2019 по 2023 г. Дети были обследованы в 2 этапа: первый временной этап — 10–12 мес, второй временной этап — 2,5–3 года.

Основную группу составили практически здоровые дети, находящиеся в течение первого года жизни на грудном вскармливании: 36 детей обследованы в первый временной интервал (этап) и 25 детей из этой группы — во второй временной интервал (этап). Группу сравнения составили дети, получающие адаптированную молочную смесь на основе цельного белка коровьего молока формулу 1 в первом полугодии жизни и формулу 2 — во втором полугодии: 31 ребенок обследован в первый временной интервал (этап) и 27 детей из этой группы — во второй временной интервал (этап). Дети, которые находились на искусственном вскармливании, получали смеси в полном суточном объеме. Все продукты прикорма в соответствии с возрастом дети сравниваемых групп получили в декретированные сроки согласно «Программе оптимизации вскармливания детей первого года жизни в Российской Федерации» (2019).

Проводили комплексное исследование мукозального иммунитета в собственной модификации в двух направлениях: первое — оценка цитокинового профиля с использованием метода назальных смывов, второе — оценка клеточной составляющей с использованием метода мазков-отпечатков со слизистой оболочки полости носа [8, 9]. Для приготовления мазков-отпечатков со слизистой оболочки полости носа материал забирали ватным тупфером со стенок носовой полости вращательными движениями без надавливания, наносили на обезжиренное этанолом предметное стекло, мазки высушивали на воздухе, фиксировали и окрашивали Эозин метиленовым синим по Май–Грюнвальду (3 мин), докрашивали гематоксилином и эозином. Микроскопировали не менее 500 клеток. Оценивали процентное содержание нейтрофилов, эозинофилов,

лимфоцитов, эпителиальных клеток. В популяции нейтрофилов выделяли клетки с различными классами деструкции ($n-0$, $n-1$, $n-2$, $n-3$, $n-4$), при этом как $n-0$ рассматривали клетки без признаков деструкции; $n-1$ и $n-2$ — клетки с минимальными и выраженными признаками деструкции цитоплазмы; $n-3$ — клетки с выраженными признаками деструкции цитоплазмы и минимальными признаками деструкции ядра и $n-4$ — клетки с выраженными признаками деструкции ядра. Интегральные показатели, характеризующие фагоцитарную активность нейтрофилов, находящихся в назальном смыве, исследовали на классической модели с использованием микробной взвеси *Staphylococcus aureus* (лабораторный штамм в изотоническом растворе хлорида натрия в концентрации $2 \cdot 10^6$ клеток/мл). Оценивали фагоцитарный индекс — процент активных лейкоцитов, захвативших микробы, и фагоцитарное число — среднее количество микробов, поглощенных одним нейтрофилом крови [10]. Исследование внутриклеточного кислородзависимого метаболизма нейтрофилов проводили, используя НСТ-тест. В исследовании определяли способность нейтрофилов отвечать повышением метаболической активности на стимуляцию частицами латекса [11]. Интралейкоцитарную микробицидную систему оценивали по уровням миелопероксидазы, кислой фосфатазы и катионных белков. Использовали спектрофотометрический метод определения активности ферментов, результат выражали в единицах оптической плотности (ЕОП) [12].

Для получения назального секрета использовали ватные туфферы с четко определенным весом (1 мг), смоченные стерильным изотоническим раствором хлорида натрия. Туфферы помещали под среднюю носовую раковину каждой половины носа и выдерживали 30 с, затем помещали в эппендорфовскую пробирку с изотоническим раствором хлорида натрия в объеме 0,75 мл. Центрифугировали

при 1000 g в течение 10 мин, отбирали надосадочную жидкость, разливали на аликвоты по 0,2 мл, хранили до исследования при температуре -70°C не более 1 мес. В назальном секрете определяли содержание интерлейкинов: фактора некроза опухоли (TNF- α), гамма-интерферона (IFN- γ), интерлейкина-4 (IL-4) и интерлейкина-5 (IL-5). Использовали метод иммуоферментного анализа (ИФА) и тест-системы «Вектор-Бест» (Новосибирск, Россия).

Статистическую обработку полученных данных выполняли с помощью пакета программ Statistica 10 (StatSoft, США). Размер выборки предварительно не рассчитывали. Проводили расчет среднего арифметического (M) и средних ошибок средней арифметической (m). Сравнение двух независимых выборок проводили с помощью критерия Стьюдента (t). Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Цитокины — пептидные сигнальные молекулы, участвующие в иммунорегуляции, являются медиаторами межклеточного взаимодействия и формируют систему иницирующих, амплифицирующих и супрессорных сигналов, что приводит к формированию и интеграции физиологических и патологических реакций организма ребенка на антигенное воздействие, микробную и вирусную инвазию, воспаление, повреждение тканей. Динамика цитокинового профиля младенцев, которые получили естественное и искусственное вскармливание на первом году жизни, в возрастные периоды 10–12 мес и 2,5–3 года представлена в табл. 1. Уровень IL-4 — ключевого медиатора регуляции Th2-профиля иммунного ответа в группе младенцев, получивших искусственное вскармливание, был выше, чем в основной группе, в 1,6 раза ($p = 0,01$). Биологическим эффектом IL-4 является иммунологическое отклонение дифференцировки

Таблица 1. Динамика цитокинового профиля у детей в зависимости от типа вскармливания ($M \pm m$)

Table 1. Dynamics of the cytokine profile in children depending on the type of feeding

Группа	α -ФНО, пг/мл	IFN- γ , пг/мл	IL-4, пг/мл	IL-5, пг/мл	IFN- γ /IL-4
В возрасте 10–12 мес					
Основная группа (1)	$6,42 \pm 0,4$	$2,16 \pm 0,2$	$1,61 \pm 0,2$	$2,11 \pm 0,3$	$1,35 \pm 0,2$
Группа сравнения (2)	$4,61 \pm 0,2^*$	$1,52 \pm 0,1^*$	$2,61 \pm 0,32^*$	$5,97 \pm 0,7^*$	$0,58 \pm 0,06^*$
В возрасте 2,5–3 года					
Основная группа (3)	$7,38 \pm 0,6$	$3,21 \pm 0,3^{**}$	$1,72 \pm 0,08$	$2,9 \pm 0,4$	$1,82 \pm 0,2$
Группа сравнения (4)	$2,65 \pm 0,38^*, **$	$1,92 \pm 0,1^*$	$3,84 \pm 0,4^*, **$	$8,61 \pm 0,4^*, **$	$0,50 \pm 0,04^*$
P					
1–2	0,03	0,01	0,01	0,025	0,03
1–3	0,02	0,010	0,06	0,077	0,082
2–4	0,001	0,081	0,081	0,02	0,01
3–4	0,02	0,001	0,01	0,02	0,02

Примечание. * — достоверность различий между сравниваемыми группами ($p < 0,05$); ** — достоверность различий между первым (10–12 мес) и вторым (2,5–3 года) этапами ($p < 0,05$).

Т-лимфоцитов CD4+в сторону Th2-профиля, регуляция активации В-клеточного звена иммунитета, индукция выработки IgE [13, 14]. Показано, что IL-4 ингибирует экспрессию корцепторов на поверхности Т-лимфоцитов, усиливая возможность внедрения вирусов и бактерий через систему MALT [14]. На первом этапе содержание другого важного медиатора Th2-иммунного ответа IL-5 также было статистически значимо выше в группе младенцев, получивших искусственное вскармливание, по сравнению с основной группой в 2,8 раза ($p=0,025$).

Уровень IFN- γ — индуктора Th1-иммунного ответа на первом этапе в группе младенцев, получивших естественное вскармливание, был в 1,4 раза выше, чем в группе сравнения ($p=0,01$). IFN- γ продуцируется активированными Th1-лимфоцитами и естественными киллерными клетками. Одна из важнейших функций IFN- γ — активация эффекторных функций макрофагов и нейтрофилов (микробицидность, цитотоксичность, продукция супероксидных радикалов, простагландинов) [13]. Предположительно низкая функциональная активность клеток мукозального иммунитета у младенцев, получивших искусственное вскармливание, ассоциируется с низким уровнем IFN- γ . Аналогичная тенденция прослеживалась и в отношении другого медиатора, синтезируемого лимфоцитами CD4+1-го типа (Th1), α -ФНО. Уровень α -ФНО, играющего ключевую роль в ранней пролиферации и дифференцировке лимфоцитов, у детей в основной группе статистически значимо выше, чем в группе сравнения ($6,4 \pm 0,4$ и $4,6 \pm 0,2$ пг/мл соответственно; $p=0,03$). Коэффициент IFN γ /IL-4 (<1) свидетельствует о преимущественной направленности иммунного ответа по гуморальному типу, а повышение (>1) — по клеточному. Таким образом, на этапе раннего программирования у младенцев, которые находились на грудном вскармливании, на протяжении первого года жизни имелся полноценный запуск Th1-профиля иммунного ответа. В то же время у детей, которые получили искусственное вскармливание, сохранилась девиация иммунного ответа, связанная с превалированием Th2-профиля, что характерно для иммунной системы младенцев [15].

На втором этапе концентрация IL-4 в основной группе сохранялась на уровне первого этапа ($p=0,06$), аналогичная тенденция регистрировалась и для IL-5 ($p=0,077$). В группе младенцев, которые получили искусственное вскармливание, регистрировалось статистически значимое повыше-

ние концентрации IL-4 ($p=0,02$) и IL-5 ($p=0,001$) по сравнению с таковой на первом этапе. Уровень ИФН- γ — индуктора Th1-иммунного ответа на втором этапе был выше, чем на первом, у младенцев, которые получили грудное вскармливание ($p=0,01$). В группе сравнения на фоне более низкого содержания ИФН- γ в обеих группах на втором этапе концентрация ИФН- γ сохранялась на уровне первого этапа ($p=0,08$). Динамика уровня α -ФНО на втором этапе имела разнонаправленные изменения: в группе младенцев, получивших грудное вскармливание, содержание α -ФНО достоверно увеличивалось ($p=0,02$), а в группе младенцев, получивших искусственное вскармливание, достоверно снижалось ($p=0,001$).

Исследование цитоморфологического профиля нейтрофилов на первом этапе исследований показало (табл. 2), что меньше всего клеток с признаками выраженной деструкции регистрировалось у детей, получивших естественное вскармливание: $n-3$ — $1,6 \pm 0,1\%$ и $n-4$ — $1,1 \pm 0,1\%$. В группе сравнения регистрировалось достоверное снижение числа нейтрофилов без деструктивных изменений ($p=0,001$) и увеличение субпопуляций с выраженной деструкцией. Так, содержание $n-3$ было выше в 2,8 раза ($p=0,021$), $n-4$ — в 2,5 раза ($p=0,04$).

На втором этапе исследований в основной группе по количеству нейтрофилов без признаков деструкции достоверных различий с первым этапом не обнаружено ($p=0,07$). Как и на первом этапе, при обследовании младенцев, получающих грудное вскармливание, регистрировалось минимальное количество нейтрофилов с выраженными признаками деструктивных изменений. В группе сравнения содержание нейтрофилов без признаков деструкции, напротив, снижалось, как в сопоставлении с основной группой ($p=0,01$), так и с показателями первого этапа ($p=0,004$). Количество нейтрофилов с выраженными признаками деструкции на втором этапе в группе сравнения увеличивалось в сопоставлении с основной группой ($p=0,03$ для $n-2$; $p=0,001$ для $n-3$ и $p=0,003$ для $n-4$) и показателями первого этапа исследования ($p=0,03$ для $n-2$; $p=0,02$ для $n-3$; $p=0,03$ для $n-4$). Таким образом, нами показано пролонгированное протективное действие грудного вскармливания на формирование деструктивных клеточных изменений мукозального иммунитета, которое происходит при персистенции вирусов и бактерий на слизистых оболочках и воздействии многообразных эндоэкологических факторов окружающей среды.

Для эффективного взаимодействия нейтрофилов с бактериальными и вирусными патогенами и активации фагоцитоза необходимо предварительное связывание бактерий с опсонинами, которые распознаются специфическими рецепторами. Основные опсоны — иммуноглобулины и компоненты комплемента. Они связываются как с патогенами,

так и со специфическими иммуноглобулиновыми рецепторами FcR и рецепторами комплемента CR, расположенными на внешней поверхности цитоплазматической мембраны нейтрофилов [16]. Такие параметры, как фагоцитарный индекс и фагоцитарное число, отражают процессы инициации фагоцита за счет рецепции FcR и CR [17].

Фоновое состояние микробицидности нейтрофилов, иммигрирующих в секреты, его функциональный потенциал, во многом определяет состояние резистентности и исход бактериальных и вирусных процессов, в том числе в бронхолегочной ткани. В табл. 3 представлены результаты исследования рецепции и внутриклеточной кислородзависимой биоцидности нейтрофилов при спонтанной и индуцированной активации на фоне

грудного и искусственного вскармливания. Максимальные уровни рецепции нейтрофилов на первом этапе отмечены в группе детей, получающих естественное вскармливание. Достоверное снижение рецепции нейтрофилов обнаружено в группе детей, получающих адаптированные смеси на основе коровьего молока (см. табл. 3). Максимально высокая спонтанная и индуцированная биоцидность нейтрофилов на первом этапе также регистрировалась у детей, получавших грудное вскармливание. Вместе с тем в группе детей, получивших смеси на основе коровьего молока, как спонтанная биоцидность нейтрофилов, так и резервный потенциал клетки и способность к завершённому фагоцитозу были ниже, чем в основной группе. На втором этапе исследований рецепторная активность нейтрофи-

Таблица 2. Цитоморфологическая характеристика нейтрофилов на фоне грудного и искусственного вскармливания в возрастные периоды 10–12 мес ($M \pm m$)

Table 2. Cytomorphological characteristics of neutrophils during breastfeeding and artificial feeding in the age periods of 10–12 months ($M \pm m$)

Группа детей	Класс деструкции, %				
	n-0	n-1	n-2	n-3	n-4
В возрасте 10–12 мес					
Основная группа (1)	76,7±6,9	11,0±3,9	9,6±0,9	1,6±0,1	1,1±0,1
Группа сравнения (2)	60,9±7,7*	21,4±3,1*	10,4±1,9	4,5±0,9*	2,8±0,3*
В возрасте 2,5–3 года					
основная группа (3)	72,8±8,1	12,0±4,2	8,2±0,9	1,7±0,2	1,5±0,2
группа сравнения (4)	48,6±6,2*, **	23,1±4,3*	15,4±2,1*/**	7,8±1,3*, **	5,1±0,4*, **
<i>P</i>					
1–2	0,001	0,01	0,032	0,021	0,04
1–3	0,07	0,010	0,02	0,077	0,082
2–4	0,004	0,081	0,05	0,02	0,03
3–4	0,01	0,041	0,03	0,001	0,001

Примечание. * — достоверность различий между сравниваемыми группами ($p < 0,05$), ** — достоверность различий между первым и вторым этапами ($p < 0,05$).

Таблица 3. Микробицидная и фагоцитарная активность нейтрофилов на фоне различных видов вскармливания детей в возрастные периоды 10–12 мес ($M \pm m$)

Table 3. Microbicidal and phagocytic activity of neutrophils against the background of different types of feeding of children in the age periods of 10–12 months ($M \pm m$)

Группа детей	ФИ	ФЧ	НСТ спонт. %	НСТ стим. %
В возрасте 10–12 мес				
основная группа (1)	36,9±0,4	3,8±0,2	9,2±0,7	51,7±5,1
группа сравнения (2)	28,7±0,2*	2,7±0,2*	6,6±0,5*	32,1±4,1*
В возрасте 2,5–3 года				
основная группа (3)	33,5±0,3	3,5±0,3	8,9±0,8	50,2±5,2
группа сравнения (4)	27,7±0,3*	2,2±0,2*	5,1±0,6*, **	25,3±2,9*, **
<i>P</i>				
1–2	0,04	0,03	0,01	0,03
1–3	0,087	0,09	0,07	0,08
2–4	0,073	0,06	0,04	0,04
3–4	0,03	0,02	0,02	0,03

Примечание. * — достоверность различий между сравниваемыми группами ($p < 0,05$), ** — достоверность различий между первым и вторым этапами ($p < 0,05$); ФИ — фагоцитарный индекс; ФЧ — фагоцитарное число.

лов в основной группе несколько снижалась, однако достоверных различий с показателями, полученными на первом этапе исследования, не обнаружено. В группе сравнения фагоцитарный индекс и фагоцитарное число были достоверно ниже, чем в основной группе, и сопоставимы с результатами, полученными на первом этапе. Спонтанная и индуцированная активация нейтрофила в основной группе практически была сопоставимой с показателями, полученными на первом этапе. Существенно более низкими были параметры кислородзависимой биоцидности нейтрофилов в группе сравнения — спонтанная биоцидность была ниже показателей основной группы на втором этапе и показателей, полученных на первом этапе исследований. Стимулированная биоцидность также была ниже в основной группе на втором этапе исследований и показателей, полученных на первом этапе.

Важной составляющей иммунобиологической резистентности организма ребенка признан уровень внутриклеточной биоцидности, определяемой состоянием ферментных систем преформированных в гранулах нейтрофилах. Состояние интралейкоцитарной микробицидной системы определяется уровнем важнейших ферментов клеточных гранул — миелопероксидазы, кислой фосфатазы и катионных белков. Миелопероксидаза — протеин, высвобождающийся из основных гранул нейтрофилов при инфекционных стимулах, проявляет высокую цитотоксическую активность. Кислая фосфатаза — важнейший фермент нейтрофильных гранулоцитов, отражает его функциональное состояние. Катионные белки — большая, гетерогенная по своей структуре и функциям группа протеинов, содержащихся в азурофильных и специфических гранулах нейтрофилов. К катионным белкам относятся дефенсины, лизоцим, лактоферрин, бактерицидный увеличива-

ющий проницаемость белок, катепсин G, эластаза, фосфолипаза A. Зрелые нейтрофилы не способны к синтезу и накоплению важнейших ферментов микробицидной лейкоцитарной системы и в ходе выполнения своих функций расходуют преформированные запасы данных биоцидных и регуляторных протеинов.

Уровень основных ферментных систем у детей, получающих разные виды вскармливания, представлен в табл. 4. На первом этапе обследования максимальные уровни ферментных систем регистрировались у детей, получающих грудное вскармливание. Статистически значимое снижение содержания ферментов клеточных гранул нейтрофилов отмечалось у детей, получающих вскармливание адаптированными смесями на основе коровьего молока, по сравнению с группой младенцев, получивших естественное вскармливание.

На втором этапе максимально высокие значения показателей интралейкоцитарной микробицидной системы также отмечены для группы младенцев, которые получили естественное вскармливание. Показатели интралейкоцитарной микробицидной системы в основной группе на втором этапе обследования были сопоставимы с ее характеристиками, полученными на первом этапе ($p>0,05$). В группе сравнения на фоне вскармливания младенцев адаптированными смесями уровни ферментных систем были достоверно ниже, по сравнению как с основной группой, так и с показателями, полученными в этой группе на первом этапе (см. табл. 4). Данный феномен, вероятно, связан с расходом преформированных в гранулах внутриклеточных ферментов на иммунные ответы при измененном микробиоме в связи с расширением персистенции условных патогенов.

Таблица 4. Интралейкоцитарная микробицидная система нейтрофилов в зависимости от типа вскармливания детей в возрастные периоды 10–12 мес ($M\pm m$)

Table 4. Intraleukocyte microbicidal system of neutrophils depending on the type of feeding of children in the age periods of 10–12 months ($M\pm m$)

Группа детей	Миелопероксидаза, ЕОП	Кислая фосфатаза, ЕОП	Катионные белки ЕОП,
В возрасте 10–12 мес			
основная группа (1)	0,50±0,04	0,39±0,02	0,21±0,011
группа сравнения (2)	0,30±0,06*	0,21±0,06*	0,12±0,01*
В возрасте 2,5–3 года			
основная группа (3)	0,48±0,06	0,38±0,04	0,23±0,011
группа сравнения (4)	0,20±0,04*, **	0,18±0,03*, **	0,06±0,01*, **
Р			
1–2	0,01	0,02	0,03
1–3	0,08	0,09	0,08
2–4	0,02	0,01	0,001
3–4	0,02	0,001	0,01

Примечание. * — достоверность различий между сравниваемыми группами ($p<0,05$); ** — достоверность различий между первым и вторым ($p<0,05$) этапами. ЕОП — единицы оптической плотности.

Заключение

Таким образом, полученные данные подтверждают общепринятое положение о том, что характер вскармливания на первом году жизни оказывает влияние на формирование мукозального иммунитета и программирует постнатальный онтогенез иммунологической реактивности ребенка. Течение постнатального онтогенеза иммунной системы в отсутствие иммуномодулирующего действия грудного молока приводит к дисбалансу цитокинового профиля и замедлению формирования более зрелой Th1-девиации иммунного ответа у детей раннего возраста. Грудное молоко имеет высокую биологическую активность, биодоступность факторов роста, ферментов, антител, стволовых, иммунных клеток, которые могут способствовать девиации иммунного ответа в сторону Th1-профиля. Нами показано, что на фоне вскармливания младенцев груд-

ным молоком формируется оптимальный клеточный состав слизистой оболочки верхних дыхательных путей и цитоморфологический профиль нейтрофилов с минимальными деструктивными изменениями. Вскармливание младенцев грудным молоком программирует оптимальный функциональный профиль нейтрофилов, включая уровень рецепторной активности, внутриклеточной биоцидности, цитотоксичности, способности к завершённому фагоцитозу. Грудное вскармливание оказывает положительное влияние и на формирование ферментных систем интралейкоцитарной микробицидной системы. Кроме того, естественное вскармливание младенца оказывает долговременное протективное влияние, предупреждая деструкцию нейтрофилов под воздействием эндозкологии и персистенции респираторных вирусных агентов и обеспечивая оптимальный онтогенез мукозального иммунитета респираторного тракта.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. Kuciel N., Mazurek J., Czosnykowska-Lukacka M., Królak-Olejnik B. Stem cells in breast milk. *Pediatrics Polska* — Polish J Paediatr 2018; 93(3): 260–263. DOI: 10.5114/polp.2018.77440
2. Ninkina N., Kukharsky M.S., Hewitt M.V., Lysikova E.A., Skuratovska L.N., Deykin A.V., Buchman V.L. Stem cells in human breast milk. *Human Cell* 2019; 32(3): 223–230. DOI: 10.1007/s13577-019-00251-7
3. Molès J.P., Tuailon E., Kankasa C., Bedin A.S., Nagot N., Marchant A. et al. Breastmilk cell trafficking induces microchimerism-mediated immune system maturation in the infant. *Pediatr Allergy Immunol* 2018; 29(2): 133–143. DOI: 10.1111/pai.12841
4. Ninkina N., Kukharsky M.S., Hewitt M.V., Lysikova E.A., Skuratovska L.N., Deykin A.V., Buchman V.L. *Human Cell* 2019; 32(3): 223–230. DOI: 10.1007/s13577-019-00251-7
5. Хаитов М.Р., Ильина Н.И., Лусс Л.В., Бабахин А.А. Мукозальный иммунитет респираторного тракта и его роль при профессиональных патологиях. Медицина экстремальных ситуаций 2017; 3: 8–24. [Khaitov M.R., Ilyina N.I., Luss L.V., Babakhin A.A. Mucosal immunity of the respiratory tract and its role in occupational pathologies. *Meditina ekstremal'nyh situatsii* 2017; 3: 8–24. (in Russ.)]
6. Несторова И.В., Чудилова Г.А., Ковалева С.В., Ломтатидзе М.В., Колесникова М.В., Евглевский А.А. Методы комплексной оценки функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов в норме и патологии. Методические рекомендации для иммунологов-аллергологов, врачей и биологов клинической лабораторной диагностики Краснодар, 2017: 51. [Nestorova I.V., Chudilova G.A., Kovaleva S.V., Lomtadize M.V., Kolesnikova M.V., Evglevsky A.A. Methods for a comprehensive assessment of the functional activity of neutrophil granulocytes in normal and pathological conditions. Methodological recommendations for immunologists-allergists, doctors and clinical laboratory diagnostic biologists Krasnodar, 2017: 51. (in Russ.)]
7. Матвеева Л.А. Местная защита респираторного тракта у детей. Томск: Изд-во Томского университета 1993: 276. [Matveeva L.A. Local protection of the respiratory tract in children. Tomsk: Tomsk University Publishing House 1993: 276. (in Russ.)]
8. Маланичева Т.Г., Мизерницкий Ю.Л., Агафонова Е.В., Можгина С.С. Особенности мукозального иммунитета у детей с внебольничной пневмонией на фоне сниженной резистентности организма. *Педиатрия* 2020; 99(6): 105–111. [Malanicheva T.G., Mizernitsky Yu.L., Agafonova E.V., Mozhgina S.S. Features of mucosal immunity in children with community-acquired pneumonia against the background of reduced body resistance. *Pediatrics* 2020; 99(6): 105–111. (in Russ.)] DOI: 10.24110/0031-403X-2020-99-6-105-111
9. Маланичева Т.Г., Агафонова Е.В., Зиятдинова Н.В., Скидан И.Н. Влияние характера вскармливания детей первого года жизни на формирование резистентности организма. *Российский вестник перинатологии и педиатрии* 2020; 65(6):145–154. [Malanicheva T.G., Agafonova E.V., Ziatdinova N.V., Skidan I.N. The influence of the nature of feeding children in the first year of life on the formation of body resistance. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii* 2020; 65(6):145–154. (in Russ.)] DOI: 10.21508/1027-4065-2020-65-6-145-154
10. Виксман М.Е., Маянский А.Н. Способ оценки функциональной активности нейтрофилов человека по реакции восстановления нитросинего тетразолия. Методические рекомендации. Казань: Казанский НИИЭМ 1979: 11. [Viksmann M.Ye., Mayanskiy A.N. Method for assessing the functional activity of human neutrophils using the nitroblue tetrazolium reduction reaction. Methodological recommendations. Kazan': Kazanskiy NIIEM 1979: 11. (in Russ.)]
11. Герасимов И.Г., Калуцкая О.А. Кинетика реакции восстановления нитросинего тетразолия нейтрофилами крови человека. *Цитология* 2000; 42(2): 160–165. [Gerasimov I.G., Kalutskaya O.A. Kinetics of the reaction of reduction of nitroblue tetrazolium by neutrophils in human blood. *Tsitologiya* 2000; 42(2): 160–165. (in Russ.)]
12. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Истамов Х.И. Экологическая иммунология. М: ВНИРО 1995; 219. [Khaitov R.M., Pinegin B.V., Istamov Kh.I. Ecological immunology. M: VNIRO 1995; 219. (in Russ.)]
13. Козлов В.А. Некоторые аспекты проблемы цитокинов. *Цитокины и воспаление* 2002; 1 (1): 1–8. [Kozlov V.A.

Some aspects of the problem of cytokines. Tsitokiny i vospaleniye 2002; 1 (1): 1–8. (in Russ.)]

14. Сребренникова С.Н., Семинский И.Ж. Роль цитокинов в воспалительном процессе (сообщение 2). Сибирский медицинский журнал 2008; 8: 5–8. [Serebrennikova S.N., Seminsky I.Zh. The role of cytokines in the inflammatory process (communication 2). Sibirskii meditsinskii zhurnal 2008; 8: 5–8. (in Russ.)]
15. Кушнарева М.В., Виноградова Т.В., Кешишян Е.С., Парфенов В.В., Кольцов В.Д., Брагина Г.С. и др. Особенности иммунного статуса и системы интерферона у детей раннего возраста. Российский вестник перинатологии и педиатрии 2016; 61 (3): 12–21. [Kushnareva M.V., Vinogradova T.V., Keshishyan E.S., Parfenov V.V., Koltsov V.D., Bragina G.S. et al. Features of the immune status and interferon system in young children. Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii 2016; 61(3): 12–21. (in Russ.)] DOI: 10.21508/1027–4065–2016–61–3–12–21
16. Андрюков Б.Г., Сомова Л.М., Дробот Е.И., Матосова Е.В. Антимикробные стратегии нейтрофилов при инфекционной патологии. Клиническая лабораторная диагностика 2016; 61(12): 825–833. [Andryukov B.G., Somova L.M., Drobot E.I., Matosova E.V. Antimicrobial strategies of neutrophils in infectious pathology. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika 2016; 61(12): 825–833. (in Russ.)] DOI: 10.18821/0869–2084–2016–61–12–825–833
17. Casanova-Acebes M., Nicolas-Avila J.A., Li J.L., Garcia-Silva S., Balachander A., Rubio-Ponce A. et al. Neutrophils instruct homeostatic and pathological states in naive tiss. J Exper Med 2018; 215(11): 2778–2795. DOI: 10.1084/jem.20181468

Поступила: 05.07.24

Received on: 2024.07.05

Конфликт интересов:

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов и финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.

Conflict of interest:

The authors of this article confirmed the lack of conflict of interest and financial support, which should be reported.