



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ТОКСИЧЕСКИЙ ГЕПАТИТ И КАЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МОЛОКА В ДИНАМИКЕ ЛАКТАЦИИ

Хасанов Б.Б.

Бухарский государственный медицинский институт

✓ Резюме

Исследовано влияние хронического токсического гепатита (ХТГ) самок крыс на качественный состав молока в динамике лактации. Установлено, что в организме самок с ХТГ в период грудного вскармливания включаются аутоиммунные процессы и в сыворотке крови и молоке выявляются антигепатоцитарные антитела. В значительных количествах аутоантитела в динамике лактации определяются в основном в сыворотке крови, тогда как в материнском молоке их незначительное количество. Однако, выраженное снижение числа иммунокомпетентных клеток молока в динамике лактации у самок с ХТГ, скорее всего, свидетельствует о нарушении передачи адаптивного иммунитета и иммуномодулирующей функции материнского молока.

Ключевые слова: гепатит, антигепатоцитарные антитела, лактация, сыворотка крови, молоко, иммунокомпетентные клетки.

EXPERIMENTAL TOXIC HEPATITIS AND QUALITATIVE MILK COMPOUND IN LACTATION DYNAMICS

Khasanov B.B.

Bukhara State Medical Institute

✓ Resume

The effect of chronic toxic hepatitis in female rats on the qualitative compound of milk in the dynamics of lactation was researched. It has been established that in the body of females with chronic toxic hepatitis (CTH) during breastfeeding, autoimmune processes are activated and antihepatocyte antibodies are detected in blood serum and milk. Significant amounts of autoantibodies in the dynamics of lactation are determined mainly in the blood serum, while in breast milk they are insignificant. However, a pronounced decrease in the number of immunocompetent milk cells in the dynamics of lactation in females with CTH most likely indicates a violation of the transfer of adoptive immunity and the immunomodulatory function of mother's milk.

Key words: hepatitis, antihepatocyte antibodies, lactation, blood serum, milk, immunocompetent cells.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛ ТОКСИК ГЕПАТИТ ВА ЛАКТАЦИЯ ДИНАМИКАСИДАГИ СУТ ТАРКИБИНИНГ СИФАТИ

Хасанов Б.Б.

Бухоро давлат тиббиёт институти

✓ Резюме

Ургочи каламушларда сурункали токсик гепатитнинг (СТГ) лактация динамикасида сутнинг таркибининг сифатига кўрсатадиган таъсири ўрганилди. СТГ-ли ургочи каламушлар организмида аутоиммун жараёнлар фаоллашиши, қон зардобиди ва сутда антигепатоцитар антитаналар мавжудлиги аниқланди. Лактация динамикасида

антитаналарнинг сезиларли миқдори асосан қон зардобиди бўлганлиги, она сутида эса уларнинг миқдори жуда камлиги аниқланди. Шу билан бирга, СТГ бўлган аёлларда лактация динамикасида сутда иммунокомпетент хужайралари сонининг сезиларли даражада камайиши, адоптив иммунитетнинг узатилиши ва она сütünинг иммуномодуляцион функцияси бузилганлигини кўрсатиши, эҳтимолдан ҳоли эмас.

Калит сўзлар: гепатит, гепатоцитларга қарши антитаналар, лактация, қон зардобиди, сут, иммунокомпетент хужайралар.

Актуальность

Частота различных экстрагенитальных патологий у женщин детородного возраста все еще значительна. Прежде всего, увеличивается частота хронического поражения гепатобилиарной системы как следствие перенесенных вирусных или токсических гепатитов, которые под влиянием неблагоприятных экологических условий нередко принимают хроническую, затяжную форму [1, 4, 9].

Также установлено, что молочные железы после родов являются единственным органом, связывающим организм матери и младенца. Передача адаптивного иммунитета, а также многих биологически активных веществ через молоко матери является определяющей для становления иммунной, пищеварительной и многих других систем организма новорожденного [2, 7, 10, 17, 22, 23, 27, 29, 30]. Однако, нарушение этой стройной системы происходит при экстрагенитальной патологии матери, в том числе и при гепатитах.

Возможность передачи вируса гепатита от женщин-носителей HbsAg родившимся детям, развития у части детей персистенции HbsAg, формирования первично-хронического гепатита не вызывает сомнений [13, 20, 26]. Вместе с тем, до сих пор остаются малоизученными значение аутоиммунных процессов, разворачивающихся в материнском организме при хронических токсических (ХТГ) гепатитах, в динамике лактации и их влияние на качественный состав грудного молока и развитие потомства в период грудного вскармливания. Так как существует значительное число исследований указывающих, что у новорожденных от матерей с печеночной патологией одними из наиболее частых симптомов являются: нарушение процессов пищеварения [5, 12], замедление темпов формирования иммунных компонентов тонкого кишечника, а также и органов иммунной системы потомства в раннем постнатальном онтогенезе [4, 6, 8, 16, 18, 19, 20, 24]. Однако, до сих пор остается открытым вопрос о причинах и механизмах, приводящих к этим изменениям, возможно она может заключаться и в изменении качественного состава материнского молока.

В связи с этим, **целью** нашего исследования явилось изучение влияния экспериментального ХТГ матери на качественный состав материнского молока в динамике лактации.

Материал и методы

Для проведения эксперимента были использованы 3-месячные половозрелые белые беспородные самки крыс (72) массой 120-140 грамм. Животные содержались на обычном лабораторном рационе и до проведения эксперимента в течение двух недель находились в условиях карантина. В качестве модели гепатита нами была использована хроническая гелиотринная интоксикация [1]. После срока карантина самкам опытной группы (О) вводили гелиотрин в дозе 0,05 мг/грамм веса тела на 0,5 мл физиологического раствора подкожно еженедельно в течение 6 недель, животным контрольной группы (К) вводили только физраствор. Через 10 дней после последней инъекции к самкам подсаживали самцов. Для исследования были отобраны самки опытной (40) и контрольной групп (32) на 1, 3, 7, 15, 21 и 30 суток после родов. Определение антигепатоцитарных антител проводили РПГА по методу Бойдена. Для проведения серологических реакций использовались сыворотка крови (0,5 мл) и образцы молока (0,2 мл) взятые у самок крыс в вышеуказанные сроки исследования. Эритроциты барана готовились по общепринятой методике. В качестве антигена использовалась навеска печени интактной самки крыс в количестве 2,0 г, подготовка которого проводилась водно-хлороформным экстрагированием по методу Т.А. Алексеевой [14]. Содержание антигена контролировали по количеству белка, которое доводили до 1%. Для более точного вычисления и удобства при сравнении полученные результаты выражали в log2

[11]. Кроме того, наиболее доступным методом для оценки иммуномодулирующей функции молочной железы, мы решили использовать цитометрию иммунокомпетентных (ИККл) молока в динамике лактации. Для проведения цитометрических исследований клеток молока готовили мазки и окрашивали по Маю-Грюнвальду. Подсчет ИККл проводили в 20 полях зрения с каждого препарата (Ок. 15 x 90). где исследовали по 5 препаратов от каждого животного. Полученные данные обрабатывались по Фишеру-Стьюденту, достоверными считали различия удовлетворяющие $P < 0,05$.

Результат и обсуждения

При исследовании возможности возникновения аутоиммунных процессов при ХТГ матери, нами была установлена определенная динамика изменений титра антигепатоцитарных антител в крови и молоке крыс. В сыворотке крови у самок опытной группы сразу же после родов обнаруживаются аутоантитела достигающие титра 1:128, эта тенденция сохраняется до 3 суток лактации, в то время как у контрольной группы животных титр аутоантител равен 1:8 и 1:4 на 1 и 3 дни после родов соответственно. В последующие сроки лактации серопозитивными оказались сыворотки в разведении 1:64 вплоть до конца лактационного периода. Напротив, в контрольной группе антитела обнаруживаются у самок только до 7 суток грудного вскармливания, не превышающие титра 1:4, в последующие сроки лактации наблюдались только следы.

В отличие от сыворотки крови при серологическом исследовании образцов молока самок опытной группы на 1 сутки после родов, аутоантитела определялись в разведении 1:8. В последующие сроки, противопеченочные антитела не всегда обнаруживались даже в разведении 1:4. В контрольной группе показатели серологических исследований молока в период грудного вскармливания существенных различий от опытной группы не обнаружили. Для проведения более точных исследований и возможности сравнения изменения титра антигепатоцитарных антител в сыворотке крови и молоке самок крыс в динамике лактации результаты серологических исследований были выражены в $\log_2$ (см. Табл.1). Согласно этим данным при токсическом гелиотринном гепатите появление аутоантител против печени характерно только для сыворотки крови, которые присутствуют вплоть до конца периода грудного вскармливания. В то время, как в образцах молока, полученных от самок с токсическим гепатитом титр аутоантител, существенно не отличался от таковых у самок контрольной группы.

Таблица 1.

Изменение активности противопеченочных антител в крови и молоке самок крыс с хронической гелиотринной интоксикацией в динамике лактации (данные выражены в $\log_2$, $M \pm m$)

Исследуемый материал	Гр. ж-х	Сроки лактации (в сутках)				
		1	3	7	14	21
Кровь	К	1,68±0,158	0,75±0,161	0,68±0,149	0,48±0,142	0,33±0,104
	О	6,03±0,089	5,45±0,127	5,10±0,114	4,90±0,120	4,73±0,114
Молоко	К	1,60±0,206	1,48±0,089	1,30±0,082	0,83±0,196	0,78±0,164
	О	3,75±0,133	3,45±0,158	3,43±0,212	2,00±0,199	1,95±0,225

*Примечание: * - различия достоверны относительно контроля при $P < 0,05$*

Цитометрические исследования ИККл молока показали, что основным типом ИККл, поступающих с грудным молоком крысам, являются моноциты и макрофаги, а также малые лимфоциты (табл. 2). При хронической гелиотринной интоксикации с первых дней лактации наблюдается снижение общего количества ИККл, наиболее выраженное их уменьшение приходится на 15 сутки лактации. Необходимо также отметить, что к концу лактационного периода, в отличие от контрольной группы животных, в молоке самок с токсическим гепатитом не встречаются ИККл.

Таблица 2

Количественные взаимоотношения иммунокомпетентных клеток молока самок крыс с гелиотринным гепатитом в динамике лактации (абсолютные значения. $\bar{X} \pm \text{хт}$, при $n=8$)

Сроки лактации	Гр. ж-х	Иммунокомпетентные клетки					
		Общ.ч.	Блц	СрЛц	МЛц	Мон	Мф
1 сутки	К	216,3±15,0	11,1±0,8	21,0±1,6	28,8±1,2	109,1±6,0	46,3±2,60
	О	139,0±11,4	3,1±0,39	12,6±0,52	18,5±1,68	72,6±2,56	32,1±1,81
3 сутки	К	175,3±6,60	6,0±0,71	22,6±2,03	39,8±1,48	75,8±3,87	31,1±2,34
	О	126,3±10,41	3,5±0,35	15,3±1,13	24,5±1,94	64,8±4,22	18,3±1,75
7 сутки	К	122,1±9,23	5,0±0,53	16,9±0,66	15,8±0,86	52,3±2,72	32,3±2,01
	О	77,4±6,80	2,8±0,42	10,1±1,37	10,3±1,22	36,8±2,28	17,5±1,06
15 сутки	К	45,1±2,78	2,8±0,24	14,1±1,01	7,3±0,68	11,3±0,33	9,8±0,68
	О	21,6±1,94	1,8±0,24	5,6±0,35	3,5±0,27	7,9±0,39	2,9±0,39
21 сутки	К	8,5±0,44	1,0±0,35	1,4±0,44	1,8±0,33	2,1±0,39	2,3±0,24
	О	0	0	0	0	0	0

Примечание: 1. условные обозначения: Гр.ж-х - группы животных. К - контрольная. О - опытная. 2. * - показатели, где различия достоверны относительно контроля при $P<0.05$ выделены жирным шрифтом.

Анализируя полученные результаты, следует отметить, что хроническая гелиотринная интоксикация приводит к возникновению токсического гепатита, который в основном имеет тенденцию к прогрессированию, т.е. является моделью агрессивного хронического гепатита [1, 3]. При активных формах гепатитов происходят изменения в иммунном статусе, в частности отмечаются глубокие изменения в Т- и В-системах иммунитета и происходит нарастание титра иммуноглобулинов различных классов, увеличение гамма-фракции глобулинов, является критериями оценки активности развивающегося патологического процесса. В случаях перехода процесса в хроническую форму на фоне незначительного уменьшения Т-хелперов существенно снижается количество Т-супрессоров (киллеров), что способствует образованию противопеченочных антител и активизации патологического процесса с включением аутоиммунного механизма [3, 9, 23, 24].

Результаты нашего исследования еще раз показали, что гелиотринная интоксикация самок крыс до беременности является пусковым механизмом аутоаллергического процесса, прогрессирующего с течением времени. Наряду с этим, относительно невысокие титры противопеченочных антител в сыворотке крови, по-видимому, связаны, с изменениями, происходящими в организме матери в динамике беременности и лактации, стимулирующими регенерационные процессы. Почти двукратное превышение титра аутоантител сразу после родов, относительно дальнейшего периода лактации (1:128 на 1 сутки и 1:64 в последующие сроки лактации), возможно, объясняется воздействием плода,

чужеродного для организма матери. Наличие незначительного количества антител в молоке в период лактации, указывает на то, что причиной дистрофических изменений в печени крысят, рожденных интактной крысы, при вскармливании их самкой с гелиотринным гепатитом [4], являются не аутоантитела, а возможно, гепатотоксины, образующиеся в организме матери, вследствие нарушений функций печени [10, 11, 12]. Если еще учесть, установленное нами у самок с ХТГ в динамике лактации уменьшение ИККл поступающих с молоком матери в организм новорожденного, по-видимому, является одним из факторов характеризующих снижение иммуномодулирующей функции молока. Кроме того, снижение количества макрофагов, моноцитов и лимфоцитов, способствует с одной стороны нарушению передачи адаптивного иммунитета, с другой стороны, как было установлено в наших предыдущих исследованиях [15, 30], значительно уменьшается поступление лизосом, липидных капель, присутствующих в этих клетках и существенно снижаются трофическое влияние и иммунобиологические свойства грудного молока, позволяющие ребенку адаптироваться и выживать в "мире микробов", куда он вступает сразу после родов [21, 25, 28].

Заключения

Таким образом, полученные нами результаты позволяют сделать следующие выводы:

1. В крови самок крыс с токсическим гепатитом после родов и в динамике лактации определяются противопеченочные антитела, но в период грудного вскармливания, они передаются крысятам через молоко в незначительных количествах и, скорее всего, не являются основной причиной отставания становления органов пищеварительной и иммунной систем потомства.
2. Установленное у самок с ХТГ снижение количества ИККл молока с первых дней после родов и в динамике лактации и характерное отсутствие ИККл в молоке гепатитных самок на 21 сутки лактации, свидетельствует о нарушении передачи потомству адаптивного иммунитета, т.е. иммуномодулирующей функции материнского молока, так необходимой потомству в период раннего постнатального онтогенеза.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Абдуллаев Н.Х., Каримов Х.Я. Печень при интоксикации гепатотропными ядами. - Т.: Медицина. -1989. - 140 с.
2. Авлод С., Усти У.Б., Своеобразие развития. (2020). Искусственное вскармливание и особенности развития потомства, и становление надпочечников в раннем постнатальном онтогенезе. Т.: Медицина. -1996. - 140 с.
3. Азизов Е.Х. Структурно-функциональные основы реакции мезентериальных лимфатических узлов при экспериментальном токсическом хроническом гепатите и пути её коррекции: /Автореферат дис. ... кандидата медицинских наук: 14.00.23. - Ташкент, 1996. - 19 с. : ил.
4. Азизова Ф.Х., Отажоннова А.Н. (2010). Структурные особенности становления пейеровых бляшек потомства в условиях хронического токсического воздействия на организм матери. // Морфология, 117(4), 13-14.
5. Азизова Ф.Х., и др. (2001). Возрастные структурно-функциональные особенности тонкой кишки крысят, рожденных от самок крыс с хроническим токсическим гепатитом. //Врачеб. дело, 1, 103.
6. Азимов С.Б. и др., (2021). Токсический гепатит матери и структурно-функциональное формирование тимуса потомства в динамике раннего постнатального онтогенеза. // Eurasian Journal of Academic Research, 1(9), 426-429.
7. Влияние ферментов грудного молока на метаболизм углеводов в процессе адаптации новорожденных в раннем неонатальном периоде / Набухотный Т.К., Маркевич В.Э., Павлюк В.П., Ткаченко Ю.П. // Вопросы питания. – 1985. – №3. – С. 34-37.
8. Гафарова Е.А. Начальные и заключительные стадии гидролиза углеводов у потомства крыс с хроническим токсическим гепатитом: Автореф.дисс.канд.мед.наук. – Ташкент. 2001. – 18 с.
9. Еремина Е.У. Аутоиммунные заболевания печени и беременность. // Практическая медицина. - 2011. - Кеб (54). - С. 12-18.
10. Зуфаров К.А. и др. Количественные и ультраструктурные характеристики иммунекомпетентных клеток молочной железы в динамике беременности и лактации // Морфология. – 2003. – Том 124, №4. – С. 74-79.
11. Инструктивно-методические материалы по применению серологических методов диагностики при эпизоотологическом обследовании природных очагов чумы. – Москва. МЗ СССР. ГУКИ. – 1983. – 135 с.
12. Курбанов АШ. Влияние недостаточности белка в рационе матери во время беременности и лактации на развитие физиологических систем начального и заключительного этапов гидролиза углеводов у потомства: Автореф. дис. канд. биол. наук. – Ташкент. 1997. – 24 с.
13. Миноранская Е.И. Носительство HBsAg у беременных: клинико-биохимическая характеристика и влияние на течение беременности и потомство: /Автореф. дис. канд. мед. наук. Л., 1990. – 19 с.



14. Николаев А.И., Платонова Л.Е. Методы определения антител и их сравнительная оценка. – Т., "Медицина". – 1971. – 112 с.
15. Sultanova D.B., Khasanov B.B. Influence of toxic hepatitis at period of the lactations on haematologic indexis mother's and posterity//New Day in Medicine 4(28)2019 425-427 <https://cutt.ly/pbjpHah>
16. Особенности становления органов иммунной системы у крысят, рожденных от самок с хроническим токсическим гепатитом / Азизова Ф.Х., Тухватулин Ф.Ф., Турсунметов И.Р., Тухтаев К.Р. // Врачебное дело (Киев "Здоровья"). – 2001. – №2. – С.100-103.
17. Khasanov B.B. Endocrine regulation of mammogenesis//New Day in Medicine 4(28)2019 92-99 <https://cutt.ly/cby3s9Z>
18. Хасанов Б.Б. Гормональные компоненты грудного молока и их физиологическое значение. // Пробл. биол. и медиц. – 2021, 3 (128), 271-276.
19. Хасанов Б.Б., Султанова Д.Б. (2020). Влияние экстрагенитальной патологии матери на постнатальное становление печени и почек потомства. // In Университетская наука: взгляд в будущее (pp. 657-659).
20. Хасанов Б.Б., Хасанова З.Ш. Влияние токсического гепатита на детородную функцию самок крыс и развитие иммунной системы потомства. //Пробл. биол. и медиц. -2003, 2, 65-69.
21. Eberl G. A new vision of immunity: homeostasis of the superorganism. // Mucosal Immunology. Vol. 3 N 5. September 2010. doi: 10.1038/mi.2010.20 - P 450-460.
22. Hassiotou F., Geddes D.T. Immune cell-mediated protection of the mammary gland and the infant during breastfeeding // Adv. Nutr. 2015. V. 6, No. 3. P. 267–275.
23. Khasanov B.B. (2020). Experimental chronic toxic hepatitis and hematological features in the dynamics of mother's and the offspring lactation. // European Journal of Molecular & Clinical Medicine, 7(09), 1367-1373.
24. Khasanov B.B. (2021). Structural and functional features of immunocompetent breast cells glands during pregnancy and lactation in chronic hepatitis. // Psychology and Education, 58(2), 8038-8045.
25. Parker, M. G., Stellwagen, L. M., Noble, L., Kim, J. H., Poindexter, B. B., & Puopolo, K. M. (2021). Promoting human milk and breastfeeding for the very low birth weight infant. // Pediatrics, 148(5).
26. Protecting the Newborn and Young Infant from Infectious Diseases: Lessons from Immune Ontogeny. Immunity Review. // Immunity 46, March 21, 2017 ^a 2017 Elsevier Inc. P/ 350-363.
27. Sultanova D. (2021). The influence of mother's extragenital pathology on the formation spleens of offspring in the early period postnatal ontogenesis. // The Scientific Heritage, (81-2), 47-49.
28. Taranushenko T.E. Unity of bowel-lung axis and the role of beneficial microbiota in anti-infectious protection. Review Articles. // Russian Journal of Woman and Child Health. 2021;4(4):355–361 (in Russ.). DOI: 10.32364/2618-8430-2021-4-4-355-361.
29. Tukhtaev K.R. and others. (2003). Structural and functional interrelations of immunocompetent cells in the mammary gland of lactating rats and in the small intestine of newborn rats during suckling period. // Morfologiya (Saint Petersburg, Russia), 124(6), 70-72.1
30. Zufarov K.A. and others. (2003). Quantitative and ultrastructural characteristics of immunocompetent cells in the mammary gland during pregnancy and lactation. // Morfologiya (Saint Petersburg, Russia), 124(4), 74-79.

Поступила 09.06.2022