

**ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МІНІСТЕРСТВА ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ»**

ДЕМ'ЯНЧУК НАТАЛІЯ РОМАНІВНА

УДК: 618.19-002-071-07:616.155.3-097.37-07

**БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ ТА ЦИТОКІНОВА РЕГУЛЯЦІЯ
ПРИ ЛАКТАЦІЙНИХ МАСТИТАХ**

03.00.04 - біохімія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Тернопіль – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор

Лаповець Любов Євгенівна, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, завідувач кафедри клінічної лабораторної діагностики факультету післядипломної освіти.

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор **Загайко Андрій Леонідович**, Національний фармацевтичний університет МОЗ України, завідувач кафедри біологічної хімії

доктор медичних наук, доцент **Криницька Інна Яківна**, Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», завідувач кафедри клініко-лабораторної діагностики.

Захист відбудеться «07» грудня 2016 р. о 11⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 58.601.04 Державного вищого навчального закладу «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» за адресою: 46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1.

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Державного вищого навчального закладу «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» за адресою: 46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8.

Автореферат розісланий «04» листопада 2016 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради
кандидат біологічних наук, доцент

Т.Я. Ярошенко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Дослідження проблем охорони здоров'я жінок у післяпологовий період належить до пріоритетних наукових напрямів, одним з яких є вивчення патології молочних залоз. Особливе місце серед запальних захворювань молочної залози займає лактаційний мастит. Це пов'язано з низкою соціальних і медичних проблем, таких, як збільшення термінів непрацездатності, питання грудного вигодовування, неможливість догляду за дитиною, ризик розвитку інфекційних ускладнень у матері та дитини, косметичні дефекти (Чернова Н.В., 2012; Ласачко С.А., 2014; Пустотина О.А., 2014; Яковлев Я.Я., 2015).

Розуміння механізмів запального процесу є важливою проблемою і предметом вивчення в біології та медицині. Суть цієї захисної реакції полягає в концентрації специфічних факторів у зоні пошкодження, ліквідації генетично чужорідних молекул, а також у відновленні структури та функції тканини. Маркерами запального процесу є білки гострої фази (церулоплазмін, гаптоглобін, С-реактивний протеїн та ін.), компоненти гуморальної ланки імунітету, цитокіни (інтерлейкіни, хемокіни), а також клітини: нейтрофіли, макрофаги, лімфоцити. Згідно із сучасними дослідженнями, церулоплазмін та гаптоглобін – активні учасники оксидантної системи, які проявляють виражені антипротеолітичні, бактеріостатичні властивості. С-реактивний протеїн здійснює зв'язок між різними ланками запального процесу – посилює адгезію лейкоцитів до ендотелію, хемотаксис, фагоцитоз, модулює активність імунокомпетентних клітин. Універсальним біохімічним маркером гострої фази запалення є також прокальцитонін, який при інфекції продукується різними типами клітин і є індикатором розвитку септичного процесу (Токарчук Н.І., 2013; Чучеліна О.О., 2015; Дзюбановський І.Я., 2015; Ingman W., 2014).

Більшість збудників позаклітинних бактерійних інфекцій зумовлює утворення специфічних антитіл – імуноглобулінів, які зв'язуються з поверхнею мікроорганізмів та викликають цитотоксичні реакції. У реалізації гуморальної імунної відповіді беруть участь В-лімфоцити, Т-хелпери (CD4⁺ Т-лімфоцити), антигенпрезентуючі клітини. У відповідь на перше проникнення до організму чужорідного антигену формується первинна імунна відповідь, яка характеризується продукуванням антитіл класу IgM, потім – IgG, і найпізніше синтезуються IgA. Однією з біологічних функцій імуноглобулінів є нейтралізація антигенів з утворенням циркулюючих імунних комплексів, які вважають потенційними факторами імунного ураження органів і тканин (Супрун Е.Н., 2014; Матолич У.Д., 2014; Лаповець Л.Є., 2014).

Протягом останніх десятиліть серед ендогенних механізмів регуляції увагу дослідників привертають медіатори біохімічних та імунних реакцій – цитокіни. Доведено, що система цитокінів є ключовою в захисті організму від інфекцій. Численні факти вказують на наявність тісного взаємозв'язку між рівнем продукування цих молекул і клінічними характеристиками інфекційного запального процесу. Для глибокого розуміння механізмів розвитку захворювань і створення методів лікування необхідним є вивчення сигнальних шляхів регуляції в різних типах імунних клітин (Симбирцев А.С., 2013; Тренева М.С., 2014; Sudowe S., 2013).

На сьогодні встановлено велику кількість захисних факторів у грудному молоці: лактоферин, лізоцим, імуноглобуліни, олігосахариди, цитокіни, біфідо- і лактобактерії, імунокомпетентні клітини та ін. Імуномодулюючі фактори грудного молока у поєднанні з впливом патогенів навколишнього середовища забезпечують розвиток імунної системи дитини та формування механізмів активного і пасивного імунітету (Протасова Н.В., 2012; Тутченко Л.И., 2013; Кондратьева Е.И., 2013; Абатуров О.Є., 2015; Ballard O., 2013).

За літературними даними, лактаційний мастит становить близько 80–90 % від усіх захворювань на гострий мастит, у 57,6 % пацієток запальний процес у молочній залозі розвивається протягом трьох тижнів після пологів, проте може виникнути на будь-якій стадії лактації. У структурі гнійних ускладнень післяпологового періоду мастит досягає 65 %, а кількість жінок із цією патологією в хірургічних стаціонарах становить 5–7% від усіх оперованих з приводу гнійно-запальних захворювань (Ласачко С.А., 2014; Яковлев Я.Я., 2015; Strauss A., 2014). Отже, лактаційний мастит залишається однією з актуальних проблем як у гнійній хірургії, так і в практиці акушера-гінеколога та педіатра.

З огляду на наслідки захворювання у вигляді порушення функції молочної залози, нервово-психічних розладів, розвитку доброякісних та злоякісних пухлин, актуальним є поглиблене вивчення механізмів цитокінової регуляції, біохімічних маркерів запального процесу в молочній залозі. Профілактика та рання діагностика післяпологового маститу є вкрай необхідними, адже дають змогу швидко почати лікування, уникнути ускладнень, зберегти лактацію у більшості випадків, мінімізувати негативний вплив на жінку та дитину.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана згідно з планом наукових досліджень Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького і є фрагментом науково-дослідної роботи кафедр клінічної лабораторної діагностики, хірургії та ендоскопії факультету післядипломної освіти «Розробка диференційованої тактики, діагностики, лікування і профілактики моно- і поліорганної недостатності при гострих абдомінальних захворюваннях та травмах» (номер державної реєстрації 0110U002149).

Мета дослідження: з'ясувати особливості вмісту біохімічних і лейкоцитарних маркерів, рівнів цитокінів у сироватці крові та грудному молоці при лактостазі й лактаційному маститі.

Завдання дослідження:

1. Встановити вміст церулоплазміну, гаптоглобіну, С-реактивного протеїну та прокальцитоніну при запальному процесі в молочній залозі.
2. Оцінити зміни рівнів імуноглобулінів, ЦКс, лактоферину в сироватці крові і грудному молоці жінок, в яких виник лактаційний мастит.
3. Вивчити зміни цитокінового профілю в сироватці крові та грудному молоці при лактостазі й лактаційному маститі.
4. З'ясувати ступінь ендогенної інтоксикації та зміни показників субпопуляційного складу лімфоцитів крові в жінок з лактостазом і лактаційним маститом.

5. Визначити характер кореляційних зв'язків між ключовими показниками імунної відповіді та вмістом цитокінів при запальному процесі в молочній залозі.

Об'єкт дослідження: запальний процес у молочній залозі.

Предмет дослідження: біохімічні маркери, клітинна та гуморальна ланки імунітету, ендогенна інтоксикація, регуляторні цитокіни при лактостазі та лактаційному маститі, особливості взаємозв'язку між вказаними предметами дослідження.

Методи дослідження: біохімічні – для дослідження вмісту маркерів гострофазової реакції, циркулюючих імунних комплексів; турбідиметричний – для оцінки активності запального процесу; імуноферментний – для встановлення особливостей цитокінового профілю, компонентів гуморальної ланки імунітету; мікроскопічний – для визначення інтенсивності ендогенної інтоксикації; непрямий імунофлюоресцентний – для дослідження клітинної ланки імунітету; статистичний – для математичної обробки отриманих результатів дослідження.

Наукова новизна одержаних результатів. На підставі отриманих даних уперше проведено комплексне дослідження біохімічних маркерів, особливостей цитокінової регуляції, кількості популяцій і субпопуляцій лімфоцитів у периферичній крові та грудному молоці жінок з лактостазом і лактаційним маститом.

Уперше встановлено, що перебіг лактаційного маститу супроводжується зміною вмісту гострофазових білків, про що свідчить зростання концентрації церулоплазміну, гаптоглобіну, С-реактивного протеїну. При розвитку запального процесу в молочній залозі підвищується рівень прокальцитоніну.

Досліджено, що лактаційний мастит призводить до порушення гуморальної ланки імунітету з підвищенням сироваткового вмісту імуноглобулінів класів А, М, G, рівня циркулюючих імунних комплексів, а також посилення продукування IgA, sIgA, IgG, лактоферину в грудному молоці порівняно з показниками контрольної групи.

Доведено, що лактаційний мастит характеризується розвитком системної запальної відповіді, яка проявляється підвищенням рівнів прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-8 і протизапального цитокіну IL-10 у сироватці крові та активацією локального синтезу даних медіаторів.

З'ясовано, що лактаційний мастит супроводжується поглибленням ендогенної інтоксикації, розвитком Т-клітинного імунодефіциту на тлі зменшення відносної та абсолютної кількості Т-лімфоцитів CD3⁺ і CD4⁺, зниження імунорегуляторного індексу.

Практичне значення отриманих результатів. Результати проведених досліджень розкривають біохімічні й імунні механізми змін у сироватці крові та грудному молоці при запальному процесі в молочній залозі, доповнюють відомості про патогенез лактаційного маститу.

Проведені обстеження показали можливість використання отриманих результатів для вдосконалення процесів діагностики лактостазу та лактаційного

мастити, профілактики виникнення можливих ускладнень. Новий підхід дасть можливість діагностувати патогенні прояви дисфункції імунної системи та відкоригувати імунодефіцитний стан, попереджуючи розвиток ускладнень запального характеру.

Отримані дані дозволяють полегшити діагностику та диференційну діагностику, оцінити перебіг захворювання, розробити рекомендації щодо профілактики можливих запальних ускладнень при лактостазі й лактаційному маститі.

Результати досліджень впроваджено у навчальний процес на кафедрах біологічної та медичної хімії імені акад. Г.О. Бабенка ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, клініко-лабораторної діагностики ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», клінічної лабораторної діагностики, патологічної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Особистий внесок здобувача. Автор провела патентно-інформаційний пошук та опрацювала літературу з теми. Роботу виконано на базі клініко-діагностичної лабораторії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (свідоцтво про атестацію № РЛ 011-14 від 04.02.2014 р.). Спільно з науковим керівником аргументовано робочу гіпотезу дослідження, сформульовано мету і завдання, обґрунтовано методичні рішення. Здобувач самостійно провела лабораторне обстеження хворих, здійснила математичний аналіз та статистичне опрацювання матеріалу. З консультативною допомогою наукового керівника проведено аналіз окремих отриманих результатів, обґрунтовано патогенетичний механізм розвитку дисфункції імунної та цитокінової систем при лактостазі й лактаційному маститі. Автор написала та проілюструвала всі розділи дисертації, сформулювала висновки.

Апробація результатів дисертації. Результати дисертації оприлюднено на засіданнях Львівської обласної організації «Українське товариство клінічної лабораторної діагностики» (2014–2016), науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2014), III Міжнародному медичному конгресі «Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України» (Київ, 2014), VIII науково-практичній конференції «Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм» (Тернопіль, 2015), Міжнародній науково-практичній конференції «Актуальні питання розвитку медичних наук у XXI ст.» (Львів, 2016).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 11 наукових праць, у тому числі 5 – у фахових виданнях України, 1 – в іноземному періодичному виданні, 4 – у матеріалах і тезах конференцій, 1 патент на корисну модель.

Обсяг і структура дисертації. Дисертація викладена українською мовою на 148 сторінках друкованого тексту (основний обсяг становить 124 сторінки) та включає вступ, огляд літератури, опис матеріалів та методів дослідження, 3 розділи

власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів дослідження, висновки, список використаної літератури, який містить 220 джерел (143– кирилицею та 77– латиницею). Робота ілюстрована 12 таблицями і 52 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Для вирішення поставлених завдань проведено комплексне лабораторне обстеження 97 жінок, яких було поділено на групи. До I групи ввійшли 30 жінок з лактостазом (середній вік становив $26,61 \pm 1,98$ року). II групу склали 37 жінок, у яких розвинувся лактаційний мастит (середній вік – $26,38 \pm 2,47$ року). Під час підбору жінок було використано результати анамнезу, клінічного обстеження та спеціальних інструментальних досліджень (УЗД молочних залоз, дані бактеріального аналізу та ін.). До групи контролю включено 30 клінічно здорових жінок, які перебувають в лактаційному періоді.

Підбір жінок здійснювали на базі Комунальної міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги м. Львова. На 1 добу з моменту прийняття у відділення в жінок брали кров з ліктьової вени та грудне молоко для проведення досліджень вранці натще.

Дослідження виконували з урахуванням заходів безпеки для здоров'я пацієнток, дотриманням їх прав, людської гідності й морально-етичних норм згідно з принципами Гельсінської декларації прав людини, Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину та відповідними Законами України.

Комісія з питань етики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького порушень морально-етичних норм при проведенні досліджень не виявила (протокол засідання № 2 від 15.02.2016 р.).

Вміст церулоплазміну (Камышников В.С., 2009) та гаптоглобіну (Камышников В.С., 2009) вивчали за допомогою стандартного набору реактивів ТОВ НВП «Філісіт–Діагностика». Концентрацію С-реактивного протеїну визначали турбідиметричним методом з використанням набору реактивів CRPLX «Roche Diagnostics» на автоматичному аналізаторі COBAS INTEGRA 400 plus. Кількість циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові визначали преципітацією їх розчином поліетиленгліколю-6000 (Гриневич Ю.А., 1981). Вміст прокальцитоніну в сироватці крові, концентрацію сироваткових імуноглобулінів основних класів, лактоферину, секреторного IgA, IgA й IgG у грудному молоці, рівень цитокінів IL-1 β , IL-8, IL-10 у сироватці крові та грудному молоці визначали за допомогою наборів реактивів фірми «ВЕКТОР-БЕСТ» (Російська Федерація) на аналізаторі STAT FAX 303 plus. Кількість лейкоцитів, показники лейкоцитарної формули обчислювали з використанням мікроскопа ЛЮМАМ «МИКМЕД-5». Інтенсивність ендогенної інтоксикації оцінювали за показниками лейкоцитарних індексів (Сперанский И.И., 2009). Кількісне визначення популяцій та субпопуляцій лімфоцитів проводили непрямым імуофлюоресцентним методом із застосуванням моноклональних антитіл.

Результати досліджень аналізували математичним методом – шляхом статистичної обробки одержаних даних із використанням методу варіаційної статистики за допомогою програми STATISTICA 6 (Statsoft, USA). Визначали такі

основні статистичні показники, як середнє арифметичне значення (M), стандартна похибка середнього арифметичного (m). Кожен із показників за допомогою критерію Шапіро–Уїлка тестували на нормальність розподілу. Враховуючи умови досліджень та розподіл даних, вірогідні відмінності між групами оцінювали за допомогою параметричного критерію Стюдента. Відмінність між середніми арифметичними величинами вважали вірогідною при значенні $p < 0,05$.

З метою виявлення кореляційних зв'язків визначали коефіцієнт кореляції $|r|$ між усіма показниками, які досліджували. Щільність зв'язку оцінювали за абсолютним значенням лінійного коефіцієнта кореляції Пірсона, вважаючи, що при $r \leq 0,25$ взаємозв'язок слабкий; $0,25 < r < 0,75$ – середньої сили взаємозв'язок; $r \geq 0,75$ – кореляційний зв'язок сильний.

Результати досліджень та їх обговорення. У результаті проведених досліджень встановлено, що розвиток лактаційного маститу супроводжувався зміною вмісту біохімічних маркерів запального процесу, таких, як церулоплазмін, гаптоглобін, С-реактивний протеїн, прокальцитонін (табл. 1).

Таблиця 1

Вміст біохімічних маркерів у сироватці крові жінок I та II груп (M±m)

Показник	Контроль (n=30)	I група (n=30)	II група (n=37)
Церулоплазмін, г/л	0,32±0,01	0,57±0,02*	0,42±0,01*#
Гаптоглобін, г/л	0,37± 0,02	2,45± 0,02*	2,4±0,04*
С-реактивний протеїн, мг/л	3,53 ± 0,23	69,18±2,12*	28,95±2,02*#
Прокальцитонін, нг/мл	0,021±0,004	0,07±0,02*	0,81±0,25*#

Примітка. * – вірогідність відмінностей показників порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$); # – вірогідність відмінностей показників порівняно з I групою ($p < 0,05$).

У сироватці крові жінок I групи вміст ЦП перевищував значення контрольної групи у 1,8 раза ($p < 0,05$), у жінок II групи – в 1,3 раза ($p < 0,05$). При порівнянні показників ЦП у досліджуваних групах було встановлено зниження рівня даного маркера при лактаційному маститі в 1,3 раза ($p < 0,05$). Підвищений вміст ЦП вказував на активну фазу запального процесу.

Середній показник вмісту ГГ у жінок з лактостазом вірогідно більший від контрольного значення в 6,6 раза ($p < 0,05$). У жінок II групи вміст ГГ перевищував показник групи контролю у 6 разів та знижувався в 1,1 раза відносно аналогічного показника I групи, проте ці зміни не були вірогідними ($p > 0,05$).

Встановлений рівень ГГ при лактостазі вказував на гострий запальний процес у молочній залозі та бактеріостатичний ефект даного реактанта. Як відомо, при розвитку лактаційного маститу кількість ГГ зростає внаслідок стимуляції синтезу інтерлейкінів, що свідчить про деструктивні зміни у тканинах.

Вміст СРП у сироватці крові жінок з лактостазом у 19,6 раза більший від показника контрольної групи ($p < 0,05$). При розвитку лактаційного маститу рівень СРП перевищував показник контролю у 8,2 раза та знижувався у 2,4 раза відносно вмісту даного маркера при лактостазі ($p < 0,05$). Встановлена концентрація СРП свідчила про виражену активність системного запалення на ранніх стадіях.

При дослідженні грудного молока виявлено підвищення продукування СРП у жінок I групи ($2,05 \pm 0,07$ мг/л) у 205 разів відносно показника групи практично здорових жінок ($0,01 \pm 0,001$ мг/л, $p < 0,05$). У жінок II групи рівень СРП у грудному молоці становив $0,45 \pm 0,04$ мг/л, що перевищувало контрольне значення в 45 разів, і був нижчим від показника жінок I групи у 4,5 раза ($p < 0,05$). Посилення локального синтезу СРП є найбільш ранньою ознакою запального процесу в молочній залозі.

Вміст прокальцитоніну в сироватці крові жінок I групи перевищував у 3,3 раза рівень даного показника контрольної групи ($p < 0,05$). Концентрація прокальцитоніну в крові жінок II групи була в 11,6 раза більшою, ніж при лактостазі, та у 38,6 раза перевищувала значення здорових жінок групи контролю ($p < 0,05$). Встановлений рівень прокальцитоніну за лактаційного маститу вказував на можливість розвитку помірного септичного процесу (бактеріальне запалення з наявністю системних проявів).

Запальний процес у молочній залозі призводить до порушення гуморальної ланки імунітету. Результати досліджень вмісту IgA, IgG та IgM у сироватці крові жінок I і II груп представлено на рисунку 1.

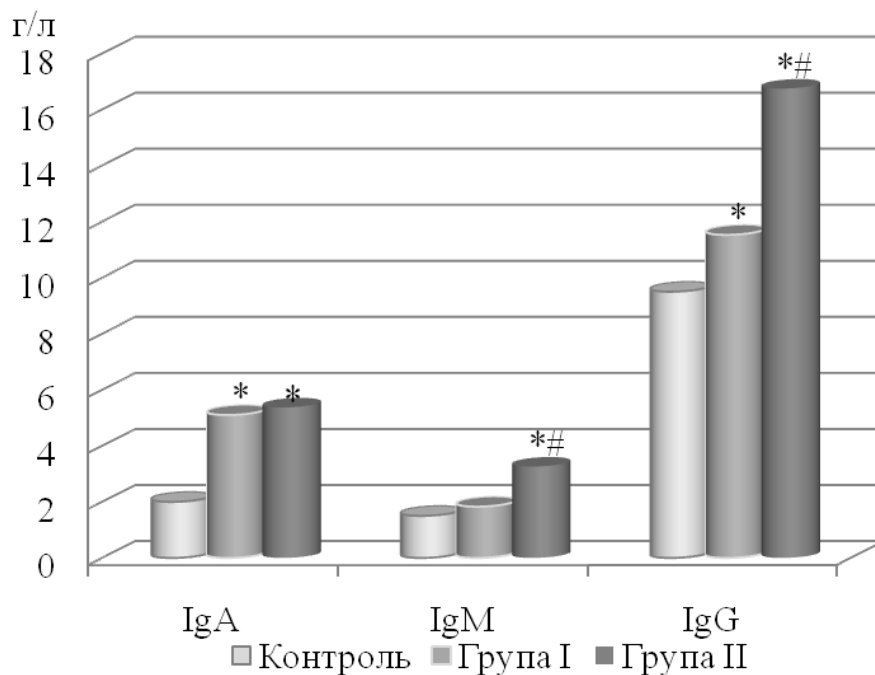


Рис. 1. Вміст IgA, IgG, IgM у сироватці крові жінок I та II груп.

Примітка. * – вірогідність відмінностей показників порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$); # – вірогідність відмінностей показників порівняно з групою I ($p < 0,05$).

У жінок I групи концентрація імуноглобулінів класу A становила $5,1 \pm 0,45$ г/л, що перевищувало показник контрольної групи у 2,5 раза ($2,0 \pm 0,19$ г/л, $p < 0,05$). У жінок II групи виявлено зростання концентрації імуноглобуліну A ($5,37 \pm 0,5$ г/л), порівняно з показником контрольної групи, у 2,7 раза ($p < 0,05$). Проте результати

проведених обстежень свідчать про те, що вміст IgA в сироватці крові жінок I і II груп вірогідно не відрізнявся ($p > 0,05$).

Вміст сироваткового IgM при лактостазі ($1,83 \pm 0,16$ г/л) збільшився в 1,2 раза, проте ці дані виявились невірогідними відносно групи контролю ($1,5 \pm 0,1$ г/л, $p > 0,05$). Рівень IgM при лактаційному маститі був вищий за показники групи контролю у 2,2 раза і перевищував значення жінок I групи в 1,8 раза ($3,26 \pm 0,25$ г/л, $p < 0,05$).

При дослідженні IgG у сироватці крові жінок I групи ($11,53 \pm 0,7$ г/л) встановлено перевищення його рівня в 1,2 раза відносно групи здорових жінок ($9,5 \pm 0,52$ г/л, $p < 0,05$). Вміст сироваткового IgG у жінок II групи становив $16,75 \pm 0,85$ г/л, що перевищувало показник зазначеного імуноглобуліну контрольної групи в 1,7 раза, а I групи - в 1,4 раза ($p < 0,05$).

При аналізі середньомолекулярних ЦІК у жінок із гострим застоєм молока встановлено зростання їх концентрації ($119,0 \pm 4,2$ ум. од.) в 1,8 раза відносно контрольного показника $65,0 \pm 1,3$ ум. од., $p < 0,05$). У жінок II групи рівень ЦІКс становив $145 \pm 3,8$ ум. од., що перевищувало середнє значення групи здорових жінок у 2,2 раза ($p < 0,05$), I групи – в 1,2 раза ($p < 0,05$).

Результати дослідження грудного молока жінок, в яких виник лактостаз, вказують на вірогідне підвищення рівня IgA ($0,80 \pm 0,01$ г/л) у 4 рази ($p < 0,05$) порівняно з показником жінок контрольної групи. Аналізуючи рівень IgA у грудному молоці жінок II групи ($0,97 \pm 0,03$ г/л), слід відмітити його зростання відносно даного показника групи контролю і I групи у 4 та 1,2 раза відповідно ($p < 0,05$).

Аналогічні зміни виявлено при дослідженні імуноглобулінів класу G у грудному молоці. Концентрація IgG у жінок I групи ($0,30 \pm 0,01$ г/л) вірогідно перевищувала показник здорових жінок у 7,5 раза ($p < 0,05$). Для жінок II групи характерне значне зростання рівня імуноглобулінів класу G ($0,41 \pm 0,02$ г/л) відносно контрольної групи здорових жінок у 10,2 раза ($p < 0,05$). Порівнюючи результати дослідження рівня IgG, виявили, що вміст антитіл класу G у жінок II групи в 1,3 раза перевищував показник жінок I групи ($p < 0,05$). Встановлені значення IgA та IgG свідчили про збільшену проникність слизової оболонки молочної залози.

При дослідженні секреторної форми IgA встановлено посилення його продукування у грудному молоці жінок досліджуваних груп відносно групи контролю. Слід відзначити, що показники вмісту sIgA у жінок I групи ($0,72 \pm 0,04$ мг/мл) та II групи ($0,75 \pm 0,05$ мг/мл) вірогідно не відрізнялись ($p > 0,05$). Підвищення вмісту sIgA у грудному молоці жінок досліджуваних груп було проявом захисно-компенсаторного характеру змін.

Аналізуючи вміст ЛФ у грудному молоці жінок досліджуваних груп, встановили посилення продукування даного маркера при розвитку лактостазу ($8,85 \pm 0,3$ мг/мл) у 1,8 раза порівняно з показником жінок контрольної групи ($4,78 \pm 0,47$ мг/мл, $p < 0,05$). Рівень ЛФ у грудному молоці при лактаційному маститі перевищував у 3,1 раза контрольне значення і в 1,7 раза показники жінок I групи ($p < 0,05$). Результати дослідження свідчать про посилення бактеріостатичної та

бактерицидної дії за рахунок лактоферину, активацію неспецифічного захисту молочної залози.

Отримані результати щодо цитокинового профілю в досліджуваній сироватці крові представлено на рисунку 2.

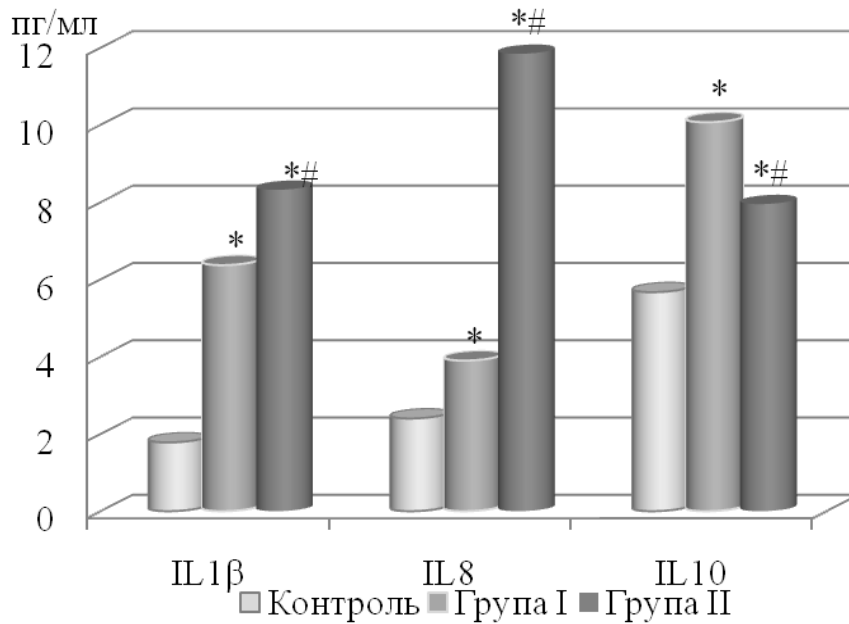


Рис. 2. Вміст IL-1β, IL-8, IL-10 у сироватці крові жінок I та II груп.

Примітка. * – вірогідність відмінностей показників порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$); # – вірогідність відмінностей показників порівняно з групою I ($p < 0,05$).

Встановлено, що вміст сироваткового IL-1β у жінок досліджуваних груп вищий за показник контрольної групи. Середнє значення IL-1β у сироватці крові жінок I групи становило $6,37 \pm 0,46$ пг/мл, що в 3,5 раза перевищувало показник групи контролю ($1,78 \pm 0,11$ пг/мл, $p < 0,05$). Концентрація IL-1β у сироватці крові жінок II групи дорівнювала $8,32 \pm 0,38$ пг/мл, що в 4,7 раза перевищувало вміст цього інтерлейкіну в жінок контрольної групи й в жінок I групи у 1,3 раза ($p < 0,05$).

Проведені дослідження свідчать про те, що рівень IL-8 у сироватці крові жінок I групи ($3,9 \pm 0,38$ пг/мл) в 1,6 раза перевищував контрольну величину ($2,4 \pm 0,09$ пг/мл, $p < 0,05$). Виявлена концентрація хемокіну в жінок II групи ($11,84 \pm 0,92$ пг/мл) була більшою в 4,9 раза ($p < 0,05$) відносно аналогічного показника групи здорових жінок. Аналізуючи рівень IL-8 у досліджуваних групах, встановили зростання його концентрації при розвитку лактаційного маститу в 3 рази ($p < 0,05$) порівняно з показником жінок, в яких виник гострий застій молока. Високий рівень IL-8 сприяв залученню інших імунокомпетентних клітин до осередку ураження, посилюючи, таким чином, запальну реакцію.

Аналізуючи зміни рівня IL-10 у сироватці крові жінок I групи, виявили підвищення його концентрації ($10,07 \pm 0,66$ пг/мл), порівняно з показником жінок контрольної групи ($5,67 \pm 0,16$ пг/мл), в 1,7 раза ($p < 0,05$). Встановлений рівень IL-10

підтверджує наявність регуляторної активації клітин моноцитарно-макрофагального ряду на початковому етапі запального процесу при лактостазі.

Вміст ІЛ-10 у сироватці крові жінок, в яких розвинувся лактаційний мастит, становив $7,95 \pm 0,39$ пг/мл, що перевищувало показник контрольної групи в 1,4 раза ($p < 0,05$). Порівнюючи результати дослідження крові жінок I і II груп виявили, що рівень ІЛ-10 при розвитку лактаційного маститу був у 1,3 раза нижчим, ніж такий показник у жінок, в яких виник лактостаз ($p < 0,05$).

Результати досліджень вмісту цитокінів у грудному молоці обстежуваних жінок представлено на рисунку 3.

У грудному молоці жінок контрольної групи середній показник вмісту ІЛ-1 β становив $13,85 \pm 0,77$ пг/мл. При розвитку лактостазу концентрація ІЛ-1 β ($17,63 \pm 1,34$ пг/мл) в 1,2 раза перевищувала значення даного цитокіну здорових жінок ($p < 0,05$).

Середній рівень ІЛ-1 β ($69,67 \pm 2,37$ пг/мл) у грудному молоці жінок II групи перевищував величини контрольної групи та I групи у 5 і 3,9 раза відповідно ($p < 0,05$). Збільшений вміст ІЛ-1 β у грудному молоці підтвердив участь цього цитокіну в місцевому запальному процесі та свідчив про стимуляцію метаболізму сполучної тканини та клітин ендотелію.

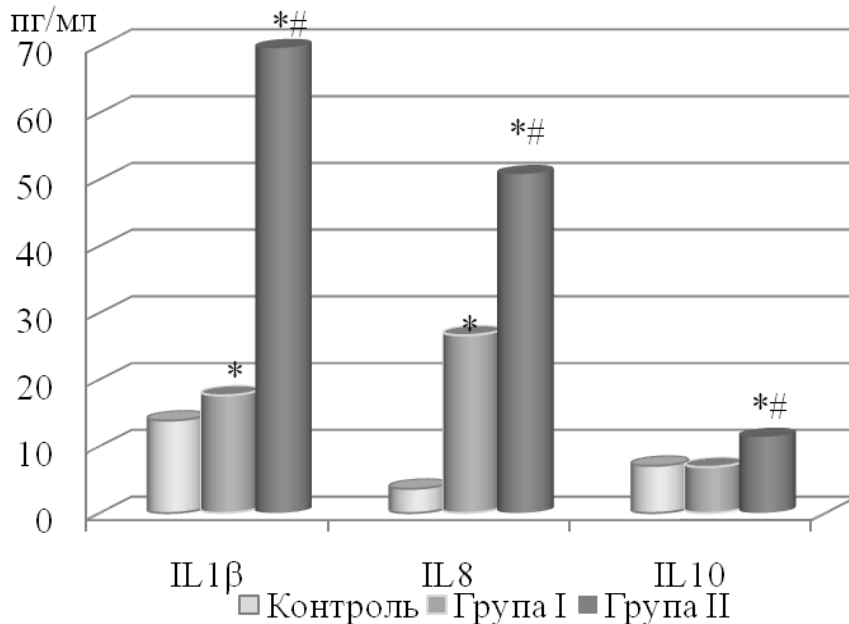


Рис. 3. Вміст ІЛ-1 β , ІЛ-8, ІЛ-10 у грудному молоці жінок I та II груп.

Примітка. * – вірогідність відмінностей показників порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$); # – вірогідність відмінностей показників порівняно з групою I ($p < 0,05$).

У жінок I групи рівень ІЛ-8 у грудному молоці становив $26,64 \pm 1,68$ пг/мл, що в 7,6 раза перевищує контрольне значення ($3,63 \pm 0,12$ пг/мл, $p < 0,05$). У жінок II групи виявлено вірогідне зростання концентрації ІЛ-8 ($50,77 \pm 1,58$ пг/мл) відносно показника контрольної групи ($3,63 \pm 0,12$ пг/мл) у 13,9 раза ($p < 0,05$). При порівнянні вмісту ІЛ-8 у грудному молоці жінок досліджуваних груп встановили, що середній

показник IL-8 у жінок II групи був вірогідно більшим в 1,9 раза, ніж показник у жінок I групи ($p < 0,05$). Високе продукування хемокіну відображало активність запального процесу і свідчило про значну активацію неспецифічної резистентності. Показник вмісту IL-10 у грудному молоці здорових жінок контрольної групи становив $7,07 \pm 0,11$ пг/мл. При лактостазі рівень IL-10 ($6,88 \pm 0,35$ пг/мл) мав тенденцію до зниження порівняно з відповідним значенням жінок групи контролю, проте ці зміни не були вірогідними ($p > 0,05$). У жінок II групи виявлено посилення його продукування: середній рівень IL-10 у грудному молоці перевищував показник здорових жінок в 1,6 раза ($p < 0,05$).

Встановлено перевищення синтезу протизапального цитокіну в жінок II групи порівняно з відповідним показником жінок I групи в 1,6 раза ($p < 0,05$). Зростання вмісту IL-10 може бути пов'язане з реакціями, які направлені на обмеження інтенсивності запального процесу в молочній залозі.

Проявом гострофазової відповіді організму на пошкодження є збільшення кількості лейкоцитів периферичної крові, які відображаються в інтегральних гематологічних індексах і слугують маркерами тяжкості інтоксикації при запальних, гнійно-деструктивних процесах.

При обчисленні ІЯЗ, ЛШ в жінок з лактостазом не виявлено вірогідних відмінностей відносно показників контрольної групи.

У жінок з лактаційним маститом абсолютна кількість лейкоцитів становила $10,61 \pm 0,42$ Г/л, що перевищувало даний показник групи здорових жінок ($6,56 \pm 0,18$ Г/л) у 1,6 раза ($p < 0,05$) та показник I групи ($7,74 \pm 0,54$ Г/л) в 1,4 раза ($p < 0,05$).

Розвиток лактаційного маститу характеризувався підвищенням ІЯЗ ($0,04 \pm 0,004$) в 1,9 раза порівняно з показником контрольної групи ($0,021 \pm 0,003$, $p < 0,05$). ЛШ в жінок II групи становив $4,23 \pm 0,51$, що у 2,4 раза перевищувало значення здорових жінок ($1,75 \pm 0,04$, $p < 0,05$). Встановлені зміни індексів пов'язані з розвитком інтоксикації, яка активується за умов клітинного і тканинного розпаду.

Для виявлення дисфункції клітинної ланки визначали відносну та абсолютну кількість субпопуляцій лімфоцитів.

У таблиці 2 відображено зміни показників субпопуляційного вмісту лімфоцитів у жінок I та II груп.

Результати досліджень показали, що дисфункціональний стан молочної залози у процесі лактації супроводжувався низьким рівнем експресії Т-лімфоцитів CD3⁺ за відносними показниками, проте не виявлено вірогідних відмінностей його абсолютного вмісту ($p > 0,05$). Розвиток лактаційного маститу характеризувався зниженням відносних (в 1,2 раза) та абсолютних (в 1,3 раза) показників вмісту CD3⁺-лімфоцитів стосовно здорових жінок ($p < 0,05$), що було проявом імунної недостатності.

У субпопуляційному складі Т-лімфоцитів спостерігали зниження відносного вмісту CD4⁺-лімфоцитів порівняно з аналогічним показником групи контролю: у жінок з лактостазом – в 1,8 раза, у жінок з лактаційним маститом – у 2 рази ($p < 0,05$). Абсолютний вміст Т-хелперів також був зниженим: у жінок з лактостазом – в 1,4 раза, у жінок з маститом – у 2 рази порівняно з показником контрольної групи ($p < 0,05$).

**Зміни показників субпопуляційного вмісту лімфоцитів
у жінок I та II груп (M±m)**

Показник	Контроль (n=30)	I група (n=30)	II група (n=37)
Т-лімфоцити CD3 ⁺ , %	60,0±1,24	47,89±2,15*	49,19±1,32*
Т-лімфоцити CD3 ⁺ , Г/л	1,21±0,03	1,14±0,10	0,91±0,06*
Т-лімфоцити CD4 ⁺ , %	48,71±2,11	25,84±1,12*	23,45±1,78*
Т-лімфоцити CD4 ⁺ , Г/л	0,86±0,02	0,59±0,04*	0,42±0,02*#
Т-лімфоцити CD8 ⁺ , %	18,07±1,2	23,08±1,46*	25,73±0,56*
Т-лімфоцити CD8 ⁺ , Г/л	0,26±0,01	0,54±0,04*	0,48±0,04*
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	2,69±0,12	1,12±0,03*	0,91±0,04*#
В-лімфоцити CD19 ⁺ , %	18,42±0,47	26,97±1,49*	29,14±1,03*
В-лімфоцити CD19 ⁺ , Г/л	0,37±0,01	0,63±0,05*	0,54±0,05*
NK-клітини CD56 ⁺ , %	7,71±0,42	26,73±2,51*	21,65±0,52*#
NK-клітини CD56 ⁺ , Г/л	0,16±0,01	0,58±0,04*	0,40±0,03*#

Примітка. * – вірогідність відмінностей показників порівняно з контрольною групою (p<0,05); # – вірогідність відмінностей показників порівняно з групою I (p<0,05).

Зміни протилежного характеру спостерігали при аналізі кількісного вмісту субпопуляцій Т-лімфоцитів CD8⁺. Відносна кількість Т-ефекторів у крові жінок обох груп була збільшеною відносно показника групи практично здорових жінок, однак не виявлено вірогідних відмінностей даного показника у I і II групах. Абсолютний вміст CD8⁺-лімфоцитів у групі жінок з лактостазом у 2 рази перевищував показник групи контролю (p<0,05), у жінок з лактаційним маститом – в 1,8 рази (p<0,05). Таким чином, виявлені зміни Т-клітинного імунітету вказують на порушення регуляторних процесів у межах імунної реактивності.

Заслуговує на увагу співвідношення між субпопуляціями Т-лімфоцитів CD4⁺ та CD8⁺ – імунорегуляторний індекс, який у жінок I групи знизився у 2,4 рази (p<0,05), а в II групі – у 3 рази (p<0,05). У жінок II групи ІРІ був нижчим, порівняно з жінками I групи, в 1,3 рази (p<0,05).

Аналізуючи вміст В-лімфоцитів у крові жінок, в яких виникли лактостаз і лактаційний мастит, встановили підвищення відносного та абсолютного рівнів CD19⁺-лімфоцитів порівняно з відповідним значенням здорових жінок (p<0,05). При порівнянні даного показника в дослідних групах не виявлено вірогідних відмінностей (p>0,05). Збільшення кількості В-лімфоцитів свідчило про активацію гуморальної ланки імунітету, продовження запального процесу.

У результаті проведених досліджень встановлено зростання кількості NK-клітин у жінок I групи: за відносними показниками - у 3,4 рази, за абсолютними – у 3,6 рази вище контрольних значень (p<0,05). У жінок II групи відносний та абсолютний рівні натуральних кілерів перевищували показники контролю у 2,8 і 2,5 рази (p<0,05). Перебіг лактаційного маститу супроводжувався зниженням кількості NK-клітин CD56⁺ порівняно з показником жінок I групи (p<0,05).

Провівши кореляційний аналіз отриманих даних у жінок I групи, виявили низку вірогідних зв'язків між досліджуваними показниками ($p < 0,05$). Встановлено, що в жінок I групи переважали вірогідно сильні прямі кореляційні зв'язки, дещо менше було зворотних зв'язків. Виявлено вірогідно сильні прямі кореляційні зв'язки показника вмісту ПКТ з рівнем СРП у сироватці крові ($r = 0,77$), вмісту IgA в сироватці крові з кількістю сегментоядерних нейтрофілів ($r = 0,89$), вмісту IgG в сироватці крові з показником моноцитів ($r = 0,82$), вмісту IgG у грудному молоці з кількістю CD3⁺-лімфоцитів ($r = 0,93$) та CD8⁺-лімфоцитів ($r = 0,77$), рівня IL-1 β у грудному молоці з вмістом IL-1 β у сироватці крові ($r = 0,77$), рівня IL-8 в грудному молоці з вмістом IgA у сироватці крові ($r = 0,86$) ($p < 0,05$).

Вірогідно сильний зворотний зв'язок кількості лімфоцитів простежується з відносною кількістю сегментоядерних нейтрофілів ($r = -0,98$), лімфоцитів CD8⁺ з еозинофілами ($r = -0,77$), вмісту IgA в сироватці крові з кількістю лімфоцитів ($r = -0,93$), вмісту sIgA з ЦКс ($r = -0,88$), рівня IL-8 у сироватці крові з кількістю лімфоцитів CD19⁺ ($r = -0,84$) та вмісту IgA у грудному молоці ($r = -0,86$), показника IgG у грудному молоці з кількістю CD19⁺ -лімфоцитів ($r = -0,88$) ($p < 0,05$). Виявлено прямий кореляційний зв'язок середньої сили вмісту сироваткового IgG із рівнем IgA у грудному молоці ($r = 0,55$) та рівнем ЛФ ($r = 0,5$). Показник вмісту sIgA корелював із ГГ ($r = -0,52$) та ЛШ ($r = -0,49$), показник СРП грудного молока – з ГГ ($r = -0,52$) зворотними зв'язками середньої сили ($p < 0,05$).

Встановлено, що в жінок II групи переважали кореляційні зв'язки середньої сили, дещо меншою була кількість сильних. Виявлено сильні прямі кореляційні зв'язки кількості CD4⁺-лімфоцитів із вмістом CD3⁺-лімфоцитів ($r = 0,92$), рівня IL-1 β у грудному молоці з кількістю еозинофілів ($r = 0,88$) ($p < 0,05$). Прямі кореляційні зв'язки середньої сили спостерігали між показником вмісту sIgA та рівнем IgG у сироватці крові ($r = 0,52$), ЛШ ($r = 0,45$), кількістю CD8⁺-лімфоцитів та вмістом CD4⁺ -клітин ($r = 0,69$), кількістю паличкоядерних нейтрофілів та вмістом IgA ($r = 0,60$), IL-8 у грудному молоці ($r = 0,70$), вмістом IgG та IgA в сироватці крові ($r = 0,63$) ($p < 0,05$).

Зворотні зв'язки середньої сили у II групі пацієнок встановлено між вмістом IgA у грудному молоці та кількістю IL-8 в сироватці крові ($r = -0,48$), ЛФ ($r = -0,46$), рівнем ПКТ і показником ІРІ ($r = -0,43$), вмістом ЦП ($r = -0,52$), кількістю паличкоядерних нейтрофілів та вмістом CD3⁺-лімфоцитів ($r = -0,62$), CD8⁺-лімфоцитів ($r = -0,65$), абсолютною кількістю лейкоцитів і вмістом лімфоцитів ($r = -0,68$), IL-8 у сироватці крові ($r = -0,66$), вмістом IgA у сироватці крові та кількістю сегментоядерних нейтрофілів ($r = -0,66$) ($p < 0,05$). Показник вмісту ЛФ корелював прямим середнім зв'язком із рівнем IgM у сироватці крові ($r = 0,49$) та зворотним зв'язком середньої сили з IgA грудного молока ($r = -0,46$) та сироватковим IL-1 β ($r = -0,51$) ($p < 0,05$).

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуального наукового завдання, яке полягає в дослідженні змін біохімічних маркерів запалення, встановленні особливостей цитокинової регуляції та кількості популяцій і субпопуляцій лімфоцитів у периферичній крові та грудному молоці жінок з лактостазом і лактаційним маститом.

На основі проведених досліджень сформульовано такі висновки:

1. Результати досліджень сироватки крові жінок з лактаційним маститом свідчать про підвищення концентрації позитивних білків гострої фази: церулоплазмину – в 1,3 раза, гаптоглобіну – в 6 разів, С-реактивного протеїну - у 8,2 раза порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). У грудному молоці жінок II групи вміст С-реактивного протеїну вірогідно нижчий у 2,4 раза відносно показника жінок I групи ($p < 0,05$). Рівень прокальцитоніну при лактаційному маститі перевищує показник даного маркера в контрольній і I групах у 38,6 та 11,6 раза відповідно ($p < 0,05$).

2. Перебіг лактаційного маститу характеризується вірогідно збільшеними рівнями імуноглобулінів у сироватці крові (IgA – у 2,6 раза; IgM – у 2,2 раза; IgG – у 1,7 раза ($p < 0,05$) та грудному молоці (IgA – у 4,8 раза; IgG – у 10,2 раза; sIgA – у 3,1 раза ($p < 0,05$) стосовно контрольної групи здорових жінок, що можна розглядати як захисну протибактерійну реакцію. У жінок II групи вміст циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові перевищує у 2,2 раза контрольне значення та в 1,2 раза показник жінок, в яких виник лактостаз ($p < 0,05$). Посилення синтезу IgA в сироватці крові, IgA, sIgA у грудному молоці жінок I групи є ознакою гострого запального процесу, свідчить про активацію імунного захисту на слизових оболонках. Виявлено також підвищений рівень лактоферину в жінок II групи відносно показника контрольної та I групи у 3,1 й 1,7 раза відповідно ($p < 0,05$).

3. Запальний процес у молочній залозі жінок із лактаційним маститом розвивається на тлі вираженої системної запальної відповіді – вірогідно підвищуються рівні IL-1 β (у 4,7 раза), IL-8 (у 4,9 раза), IL-10 (у 1,4 раза) в сироватці крові порівняно з групою контролю ($p < 0,05$). При дослідженні продукції цитокінів у грудному молоці жінок II групи встановлено значну активацію локального синтезу IL-1 β , IL-8 з компенсаторним зростанням рівня IL-10, що може свідчити про адекватну цитокинову регуляцію імунної відповіді.

4. Лактаційний мастит супроводжується ендогенною інтоксикацією, яка проявляється вірогідними змінами показників лейкоцитарних маркерів, зокрема підвищенням індексу ядерного зсуву в 1,9 раза, лейкоцитарного індексу інтоксикації – у 2,4 раза ($p < 0,05$) порівняно з відповідними показниками жінок контрольної групи. У жінок II групи встановлено зменшення відносної та абсолютної кількості Т-лімфоцитів CD3⁺ і CD4⁺ ($p < 0,05$), імунорегуляторного індексу, який вірогідно нижчий відносно показників контрольної групи (у 3 рази, $p < 0,05$) та I групи (в 1,3 раза, $p < 0,05$). Такі зміни свідчать про розвиток Т-клітинного імунodefіциту в жінок II групи.

5. Виявлені порушення знайшли відображення у встановлених кореляційних зв'язках між досліджуваними показниками в I та II групах. Встановлено, що в жінок I групи переважають вірогідно сильні прямі кореляційні зв'язки: показника вмісту ПКТ з рівнем СРП у сироватці крові ($r=0,77$), рівня ІЛ-1 β у грудному молоці з вмістом ІЛ-1 β у сироватці крові ($r=0,77$), рівня ІЛ-8 у грудному молоці з вмістом ІgА в сироватці крові ($r=0,86$) ($p<0,05$). У жінок II групи переважали кореляційні зв'язки середньої сили – показник вмісту ЛФ корелював прямим середнім зв'язком із рівнем ІgМ у сироватці крові ($r=0,49$) та зворотним зв'язком середньої сили з ІgА грудного молока ($r=-0,46$) та сироватковим ІЛ-1 β ($r=-0,51$) ($p<0,05$). Зворотні зв'язки середньої сили у II групі встановлено між вмістом ІgА у грудному молоці та рівнем ІЛ-8 у сироватці крові ($r=-0,48$), ЛФ ($r=-0,46$), рівнем ПКТ та показником ІРІ ($r=-0,43$), вмістом ЦП ($r=-0,52$) ($p<0,05$).

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Біомаркери запального процесу в молочній залозі / Н. Р. Дем'янчук, Л. Є. Лаповець, О. І. Март'янова, Б. М. Белявська // Медична та клінічна хімія. – 2016. – Т. 18, №2 (67). – С. 81–83. (Здобувач провела клініко-лабораторне обстеження жінок, статистичну обробку отриманих даних, підготувала статтю до друку).

2. Вміст ІЛ-1 β у сироватці крові та грудному молоці при лактаційних маститах / Н. Р. Дем'янчук, Б. М. Белявська, Л. Є. Лаповець, І. О. Куніна // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вип. 2, т. 1 (118). – С. 118–120. (Здобувач проаналізувала літературні джерела, провела статистичну обробку отриманих даних, підготувала статтю до друку).

3. Рівень ІЛ-8 у сироватці крові та грудному молоці при гнійних лактаційних маститах / Н. Р. Дем'янчук, Б. М. Белявська, Л. Є. Лаповець, В. М. Акімова // Медична хімія. – 2015. – Т. 17, № 1 (62). – С. 92–94. (Здобувач провела клініко-лабораторне обстеження жінок, обробку та аналіз результатів, підготувала статтю до друку).

4. Оцінка показників субпопуляційного складу лімфоцитів при лактаційних маститах / Н. Р. Дем'янчук, Л. Є. Лаповець, Б. М. Белявська, Т. В. Ізотова // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вип. 4, т. 1 (124). – С. 84–86. (Здобувач провела клініко-лабораторне обстеження жінок, статистичну обробку отриманих даних, підготувала статтю до друку).

5. Особенности цитокинового спектра при лактостазе и лактационном мастите / Н. Р. Дем'янчук, Л. Є. Лаповець, М. П. Залецький, Н. Е. Лаповець // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2015. – № 3–4 (15–16). – С. 142–147. (Здобувач провела підбір пацієнток, забір крові для дослідження, аналіз та узагальнення результатів, оформила статтю).

6. Дем'янчук Н. Р. Зміни гуморального імунітету у жінок, хворих на запальні захворювання молочної залози / Н. Р. Дем'янчук, Б. М. Белявська, Л. Є. Лаповець // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Вип. 1, т. 2 (99). – С. 94–95. (Здобувач проаналізувала літературні джерела, провела клініко-лабораторне обстеження пацієнток, сформулювала висновки).

7. Дем'янчук Н. Р. С-реактивний протеїн як біомаркер запального процесу у молочній залозі / Н. Р. Дем'янчук, Л. Є. Лаповець // Актуальні питання розвитку медичних наук у XXI ст. : міжнародна науково-практична конференція, 27–28 травня 2016 р. : матеріали конф. – Львів, 2016. – С. 95–97. (Здобувач проаналізувала літературні джерела, провела клініко-лабораторне обстеження пацієнток, сформулювала висновки).

8. Дем'янчук Н. Р. Концентрація імуноглобулінів А і G у грудному молоці при лактаційних маститах / Н. Р. Дем'янчук, Л. Є. Лаповець, Т. В. Ізотова // Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм : VIII науково-практична конференція, 01–02 жовтня 2015 р. : матеріали конф. – Тернопіль, 2015, – С. 25. (Здобувач провела клініко-лабораторне обстеження жінок, проаналізувала отримані дані, сформулювала висновки).

9. Рівень IL-1 β , IL-10 у сироватці крові при лактаційних маститах / Н. Р. Дем'янчук, Н. Є. Лаповець, В. М. Акімова, Т. В. Ізотова // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2014. – № 2. – С. 229. (Здобувач провела клініко-лабораторне обстеження жінок, проаналізувала отримані дані, сформулювала висновки).

10. Дем'янчук Н. Р. Вміст секреторного імуноглобуліну А у грудному молоці при лактаційних маститах / Н. Р. Дем'янчук, В. М. Акімова // Впровадження сучасних досягнень медичної науки в практику охорони здоров'я України : III Міжнародний медичний конгрес, 14–16 жовтня 2014 р. : матеріали конгр. – Київ, 2014. – С. 12. (Здобувач проаналізувала літературні джерела, провела клініко-лабораторне обстеження пацієнток, сформулювала висновки).

11. Пат. на корисну модель № 110567 Україна, МПК G01N 33/53(2006.01). Спосіб диференційної діагностики запальних процесів у молочній залозі / Дем'янчук Н. Р., Лаповець Л. Є., Белявська Б. М. – № u 2016 04981; заявл. 04.05.16 ; опубл. 10.10.16, Бюл. № 19. (Здобувач є співавтором ідеї винаходу, підготувала документи для реєстрації патенту).

АНОТАЦІЯ

Дем'янчук Н.Р. Біохімічні маркери та цитокінова регуляція при лактаційних маститах. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія. Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України», Тернопіль, 2016.

Дисертація присвячена дослідженню біохімічних маркерів, особливостей цитокінової регуляції в периферичній крові та грудному молоці жінок з лактостазом і лактаційним маститом.

Встановлено, що запальний процес у молочній залозі супроводжується підвищеним продукуванням біохімічних маркерів: церулоплазмину, гаптоглобіну, С-реактивного протеїну, прокальцитоніну. Виявлено порушення гуморальної ланки

імунітету, що характеризується вірогідним збільшенням вмісту імуноглобулінів класів А, G, циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові, а також IgA, IgG, sIgA та лактоферину в грудному молоці жінок з лактостазом і лактаційним маститом. Отримані результати свідчать про підвищення рівнів ІЛ-1 β , ІЛ-8, ІЛ-10 в сироватці крові та ІЛ-1 β , ІЛ-8 у грудному молоці жінок з лактостазом. При лактаційному маститі виявлено високий вміст ІЛ-1 β , ІЛ-8 у сироватці крові та локальне посилення продукування ІЛ-1 β , ІЛ-8, ІЛ-10.

Лактаційний мастит супроводжується поглибленням ендогенної інтоксикації, яка проявляється вірогідними змінами показників лейкоцитарних маркерів – індексу ядерного зсуву, лейкоцитарного індексу інтоксикації. Встановлено зниження рівня популяції Т-лімфоцитів CD3⁺, CD4⁺, збільшення кількості CD8⁺, CD19⁺-лімфоцитів при запальному процесі в молочній залозі. Розвиток лактаційного маститу характеризується зменшенням вмісту CD4⁺-лімфоцитів, НК-клітин CD56⁺, зниженням імунорегуляторного індексу відносно аналогічних показників при лактостазі.

Ключові слова: лактостаз, лактаційний мастит, грудне молоко, біохімічні маркери, цитокіни.

АННОТАЦІЯ

Дем'яничук Н.Р. Биохимические маркеры и цитокиновая регуляция при лактационных маститах. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 – биохимия. Государственное высшее учебное заведение «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗ Украины», Тернополь, 2016.

Диссертационная работа посвящена изучению биохимических маркеров, особенностей цитокиновой регуляции в периферической крови и грудном молоке женщин с лактостазом и лактационным маститом.

Установлено, что воспалительный процесс в молочной железе сопровождается изменением продукции биохимических маркеров: церулоплазмина, гаптоглобина, С-реактивного протеина, прокальцитонина. В сыворотке крови женщин с лактостазом и лактационным маститом уровень церулоплазмина, гаптоглобина и С-реактивного протеина превышает значения здоровых женщин контрольной группы, что свидетельствует об активной фазе воспалительного процесса. Сравнительный анализ этих данных показал снижение уровней белков острой фазы при развитии лактационного мастита. Показатели С-реактивного протеина в грудном молоке женщин с маститом были ниже, чем при развитии лактостаза.

Для дисфункционального состояния молочной железы характерно повышение уровня прокальцитонина. Следует отметить значительное увеличение концентрации данного маркера при лактационном мастите относительно контрольной группы и группы женщин с лактостазом, что указывает на возможность развития септического процесса.

Исследования показали нарушения в гуморальном звене иммунитета, которые характеризуются достоверным повышением содержания иммуноглобулинов классов А, G, циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови пациенток.

Результаты анализа грудного молока показали достоверное повышение уровня IgA у женщин с лактостазом и лактационным маститом относительно показателя женщин контрольной группы. При исследовании содержания данного антитела в грудном молоке женщин с маститом следует отметить усиление его продуцирования в сравнении с показателем группы контроля и группы женщин с лактостазом.

Установлено, что воспалительный процесс в молочной железе сопровождается изменением уровня иммуноглобулинов класса G в грудном молоке. Концентрация IgG у женщин с лактостазом и лактационным маститом превышает показатель здоровых женщин. Сравнительный анализ показал значительное возрастание уровня IgG при развитии мастита, что свидетельствует об увеличении проницаемости слизистой оболочки молочной железы.

При исследовании секреторной формы IgA установлено высокую концентрацию данного антитела в грудном молоке пациенток относительно контрольной группы. Следует отметить, что показатели содержания sIgA у женщин с лактостазом и лактационным маститом достоверно не отличались. Повышение уровня sIgA свидетельствует о защитно-компенсаторном характере изменений слизистой оболочки молочной железы.

Анализируя уровень лактоферрина, установили усиление продуцирования данного маркера при развитии лактационного мастита относительно пациенток с лактостазом и здоровых женщин. Результаты исследования свидетельствуют о повышении бактериостатической и бактерицидной функций лактоферрина, активации неспецифической защиты.

Развитие лактостаза сопровождается повышением уровней IL-1 β , IL-8 в сыворотке крови с компенсаторным ростом уровня IL-10. Установлено увеличение концентрации IL-1 β в сыворотке крови и грудном молоке женщин с маститом, что подтверждает участие этого цитокина в местном и системном воспалительном процессе. Анализ содержания IL-8 показал высокий показатель уровня данного хемокина в грудном молоке женщин с лактационным маститом, что указывает на локальный характер воспаления.

При лактостазе не установлено достоверных изменений количества лейкоцитов. Лактационный мастит сопровождается углублением эндогенной интоксикации, которая проявляется достоверными изменениями показателей лейкоцитарных маркеров – индекса ядерного сдвига, лейкоцитарного индекса интоксикации. Установлено снижение уровня популяции Т-лимфоцитов CD3⁺, относительных и абсолютных показателей Т-лимфоцитов CD4⁺, повышение количества лимфоцитов CD8⁺, CD19⁺ при воспалительном процессе в молочной железе. Развитие лактационного мастита характеризуется меньшим содержанием CD4⁺-лимфоцитов, NK-клеток CD56⁺, снижением иммунорегуляторного индекса относительно данных показателей при лактостазе.

Установлено, что при лактостазе преобладают достоверно сильные прямые корреляционные связи между содержанием ПКТ и уровнем СРП в сыворотке крови, содержанием IgG в грудном молоке и количеством CD3⁺ - и CD8⁺-лимфоцитов, уровнем IL-1 β в грудном молоке и IL-1 β в сыворотке крови, уровнем IL-8 в грудном молоке и содержанием IgA в сыворотке крови. Для лактационного мастита характерны корреляционные связи средней силы – показатель содержания ЛФ коррелирует с уровнем IgM в сыворотке крови, IgA грудного молока и IL-1 β сыворотки крови. Установлено обратную корреляционную связь между уровнем IgA в грудном молоке и IL-8 сыворотки крови, ЛФ грудного молока, между уровнем ПКТ и показателем IPI, содержанием ЦП.

ANNOTATION

Demianchuk N.R. Biochemical markers and cytokine regulation at lactation mastitis. – Manuscript.

Thesis for a Candidate's Degree in Biology, Speciality 03.00.04 – Biochemistry. – The State Higher Education Institution «I. Horbachevsky Ternopil State Medical University of the Ministry of Health of Ukraine», Ternopil, 2016.

The thesis focuses on biochemical markers and the peculiarities of cytokine regulation in peripheral blood and breast milk of females, suffering from lactostasis and lactation mastitis.

It has been established that mammary gland inflammation entails the increased production of biochemical markers: ceruloplasmin, haptoglobin, C-reactive protein, procalcitonin in blood serum. The analysis of breast milk revealed the increased content of C-reactive protein; however, at lactation mastitis this index is likely to be lower than at lactostasis developing. It has been ascertained that immunity humoral link impairment is characterized by a likely increase of A, G class immunoglobulin contents, of circulating immune complexes in blood serum, as well as of IgA, sIgA, IgG and lactoferrin in breast milk of females, suffering from lactostasis and lactation mastitis. The obtained results are the evidence of the increase of IL-1 β , IL-8, IL-10 levels in blood serum and of IL-1 β , IL-8 in breast milk of females, suffering from lactostasis. There has been revealed the increase of IL-1 β , IL-8 and IL-1 β , IL-8, IL-10 products local intensification at lactation mastitis.

The change of number of leukocytes is not characteristic of lactostasis. Lactation mastitis entails the endogenous intoxication that is manifested in likely changes of leukocyte markers indices: the increase of a total number of leukocytes, of the nuclear shift index, of the intoxication leukocyte index. The decrease of T-lymphocytes CD3⁺, CD4⁺ population level, as well as the increase of number of CD8⁺, CD19⁺-lymphocytes and NK-cells at mammary gland inflammation have been revealed. The development of lactation mastitis is characterized by a likely reduction of lymphocytes CD4⁺, CD56⁺ contents and decrease of the immunoregulatory index as compared with analogous indices at lactostasis.

Key words: lactostasis, lactation mastitis, breast milk, biochemical markers, cytokines.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ГГ	– гаптоглобін
ІРІ	– імунорегуляторний індекс
ІЯЗ	– індекс ядерного зсуву
ЛШ	– лейкоцитарний індекс інтоксикації
ЛФ	– лактоферин
ПКТ	– прокальцитонін
СРП	– С-реактивний протеїн
ЦКс	– середньомолекулярні циркулюючі імунні комплекси
ЦП	– церулоплазмін
CD3 ⁺	– кластер диференціації загальної кількості Т-лімфоцитів
CD4 ⁺	– кластер диференціації Т-хелперів
CD8 ⁺	– кластер диференціації Т-цитотоксичних лімфоцитів
CD19 ⁺	– кластер диференціації В-лімфоцитів
CD56 ⁺	– кластер диференціації натуральних кілерів
IgA	– імуноглобулін класу А
IgG	– імуноглобулін класу G
IgM	– імуноглобулін класу M
IL-1 β	– інтерлейкін 1 бета
IL-8	– інтерлейкін 8
IL-10	– інтерлейкін 10
sIgA	– секреторний імуноглобулін А