КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.98 – 07–08–036.22: 578.825 + 618.3

**Т.И. Долгих, С.Г. Дроздова, Т.В. Кадцына,
Е.А. Гашина, Е.А. Синибок, А.А. Малыгина**

E-mail: prof.dolgh@mail.ru

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СМЕШАННЫХ ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ

ГОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Несмотря на определенные достижения в педиатрии и иммунологии, проблема герпесвирусных инфекций, к которым в первую очередь относят герпетическую инфекцию, вызываемую вирусами простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1) и 2-го типа (ВПГ-2) [3, 5, 8] и цитомегаловирусную инфекцию – ЦМВИ, возбудителем которой является цитомегаловирус (ЦМВ) [2, 7, 9, 10], еще далека от своего решения. Эти инфекции остаются одной из ведущих причин мертворождаемости, самопроизвольных выкидышей, преждевременных родов, заболеваемости новорожденных и младенческой смертности [3]. Новорожденный может заразиться внутриутробно, во время родов или постнатально; при ВПГ-инфекции в 75-80% случаев инфицирование происходит во время родов, вследствие чего развиваются тяжелые неонатальные и постнатальные заболевания новорожденных, нередко с поражением мозга [1, 5, 8, 10]. Особую проблему представляет микстинфекция [7]. В последние годы внимание исследователей стала также привлекать инфекция, вызываемая вирусом Эпштейна-Барра (ВЭБ-инфекция), вклад которой в формирование патологии плода и новорожденного требует уточнения. Эти инфекции (особенно врожденная форма) представляют сложность при этиологической расшифровке заболевания ввиду широкого распространения возбудителей и присутствия «материнских» антител класса IgG к герпесвирусам, характеризуются отсутствием патогномичных признаков и полиморфностью симптоматики [1, 2, 5, 6, 8]. Проведенные нами ранее исследования [4] показали высокую значимость дан-

ной проблемы для г. Омска. По данным Городского клинического перинатального центра и родильного дома № 1, где на стационарном лечении находятся дети первых месяцев жизни с патологией, за последние 10 лет (1998-2007 гг.) отмечается рост внутриутробных инфекций в 3,4 раза. В настоящее время инфекционные заболевания заняли первое ранговое место среди причин смерти новорожденных. В структуре заболеваемости среди инфекционной патологии внутриутробные инфекции регистрировались в 30,9% случаев, при этом наиболее тяжелое течение имели ЦМВИ и ВПГ-инфекция, протекающие в виде микстинфекций.

Целью настоящей работы явилась оптимизация диагностики и лечения детей первого года жизни с герпесвирусными инфекциями на основе изучения клинко-иммунологических параллелей и установления факторов риска.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено обследование 186 детей первого года жизни с верифицированным диагнозом герпесвирусной инфекции. Основанием для обследования ребенка служили: подозрение на наличие внутриутробной инфекции, поражение ЦНС, наличие герпетических высыпаний, гепатит, синдром гипербилирубинемии, гепатоспленомегалия, полиорганные поражения, пороки развития, а также рождение детей от матерей, у которых во время беременности отмечались клинические и/или лабораторные признаки активации ВПГ-инфекции или ЦМВИ. Учитывая высокую частоту поражения мозга при внутриутробных инфекциях [1, 2, 5, 8, 10], детям проводили нейросонографию.

Лабораторные исследования были выполнены в Центральной научно-исследовательской лаборатории Омской государственной медицинской академии. Материалом для исследования служила кровь (сыворотка и лейкоцитарная взвесь), ликвор, моча, слюна и соскобы из очага поражения (с кожи, со слизистой полости рта). При наличии церебральных поражений параллельно исследовали кровь и ликвор. Диагноз базировался на результатах прямых и непрямых методов лабораторной диагностики: детекции ДНК вирусов методом полимеразной цепной реакции – ПЦР (наборы фирм «Литех» и «Интерлабсервис», г. Москва) и/или их антигенов («ранних белков») в реакции иммунофлюоресценции (наборы фирмы «Vircell», Испания); выявлении специфических IgG, IgM, IgA с определением авидности IgG-антител (тест-системы компаний «Euroimmun», Германия; ЗАО «Диагностические системы» и ЗАО «Вектор-Бест», Россия) в иммуноферментном анализе (ИФА), а также наличии IgM и IgG к отдельным белкам герпесвирусов в иммуноблоте (наборы компании «Euroimmun», Германия). ИФА проводили с использованием планшетного спектрофотометра «Multiskan» фирмы «Labsystems» (Финляндия) и автоматического ИФА-анализатора «Elisys Quattro» (фирма

«Human», Германия). Для оценки состояния цитокиновой системы методом ИФА на тест-системах «ProCob» (производство компании «Протеиновый контур», г. Санкт-Петербург) определяли содержание TNF- α , IL-4 и IFN- α в 60 образцах сыворотки крови и в 22 образцах ликвора, выделив две группы: с моноинфекцией (n=28) и микстинфекцией (n=32). Контроль составили 11 детей раннего возраста.

Для установления клинико-лабораторных особенностей течения моно- и микстинфекций, вызываемых ЦМВ, ВПГ и ВЭБ, по результатам верификации диагноза дети были разделены на следующие группы: I группу составили 37 детей с ЦМВИ, протекающей в виде моноинфекции, во II группу вошли 32 ребенка с микст-ЦМВИ (ЦМВИ+бактериальные инфекции); III группу составили 38 детей с моно-ВПГ-инфекцией; IV группу – 34 ребенка с микст-ВПГ-инфекцией (ВПГ+бактериальные инфекции); V группу составил 21 ребенок с ВЭБ-инфекцией, которая протекала в виде смешанной вирусно-бактериальной инфекции; в VI группу были включены 24 ребенка с герпесвирусными микст-инфекциями (ЦМВИ+ВПГ-инфекция; ЦМВИ+ВЭБ-инфекция). В случае микстинфекции основной клинический диагноз выставлялся на основании клинических данных (наличие типичных герпетических высыпаний), результатов нейросонографии и лабораторных данных (детекция ДНК/антигена ВПГ, ВЭБ или ЦМВ при исследовании ликвора или лейкоцитарной взвеси, наличие специфических IgM и IgA в сыворотке крови, IgA и IgG в ликворе с подтверждением интратекальной продукцией антител). Среди обследованных детей во всех группах преобладали мальчики (68-72%).

Статистическая обработка полученных результатов проведена с применением пакета программ «STATISTICA-6», Оценка статистической значимости различий показателей проводилась с применением параметрических (t-критерий Стьюдента) и непараметрических методов. Точное вычисление значимости процентов проведено по методу углового преобразования Фишера (P φ). При небольшом числе наблюдений применяли критерий Вилкоксона-Манна-Уитни (U). Различия сравниваемых величин признавали статистически значимыми при уровне значимости p<0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью выявления факторов риска развития внутриутробной и перинатальной инфекции проведен анализ соматического и гинекологического анамнеза матерей, особенностей течения беременности и родов. Установлено следующее. Возраст матерей новорожденных во всех группах колебался от 17 до 43 лет (в среднем 28,3 $\pm$ 6,9 лет). Хроническая соматическая патология женщин встречалась в 64,2% случаев, причем в случае микстинфекции – в 2,9 раза чаще (P φ <0,05) встречалась патология эндокринной системы (27,8% случаев). Гинекологические воспалительные заболевания имели место у 34,4% мате-

рей при развитии внутриутробной моноинфекции и у 53,4% матерей, дети которых имели смешанную инфекцию, при этом в случае микстинфекции преобладали кольпиты (23,5%) и бактериальные вагиниты, которые отмечены только при микстинфекции в 11,8% случаев (P φ <0,01). Анализ репродуктивной функции выявил, что среди матерей детей со смешанной инфекцией значимо больше (P φ <0,05) было повторнобеременных женщин (при ЦМВИ – 35,1% против 13,3% в I группе; при ВПГ-инфекции – 51,4% против 23,5% в III группе; при ВЭБ-инфекции – 48,8%). Статистически значимых различий в частоте самопроизвольных выкидышей между группами не установлено. Практически во всех случаях моно- и микстинфекции (в 93-96% случаев) беременность протекала с осложнениями и развитием хронической фетоплацентарной недостаточности в 76,7% случаев.

Средний срок гестации детей составил при моноинфекции 34,1 $\pm$ 3,1 недели и при микст-инфекции – 32,6 $\pm$ 3,0 недели (P φ <0,05). При анализе антропометрических показателей статистически значимых различий в физическом развитии новорожденных не установлено: средняя масса доношенных детей при моноинфекции составила M=3158,4 $\pm$ 561,1 г, а при микст-инфекции – M=3132,6 $\pm$ 469,8 г. Средняя масса недоношенных детей со смешанной инфекцией была статистически значимо ниже (P φ <0,05), чем среди недоношенных детей с моноинфекцией (M=1693,5 $\pm$ 443,5 г и M=1801,9 $\pm$ 395,5 г соответственно). Родились в асфиксии 65,3% новорожденных с моноинфекцией и 61,5% детей со смешанной инфекцией (P φ >0,05.) Оценка по шкале Апгар составила менее 3 баллов у 14,7% детей с моноинфекцией и 19,4% при микст-инфекции (P φ >0,05). Состояние детей в родильном доме в первые дни жизни расценивалось как среднетяжелое у 27,8% детей с моно- и у 29,2% новорожденных с микстинфекцией (P φ >0,05).

27,6% детей со смешанной ЦМВИ находились в крайне тяжелом состоянии. В первые дни жизни преобладали поражения центральной нервной системы различной степени тяжести у 91,4% новорожденных I группы и у 86,7% детей II группы, при этом в случае смешанной инфекции чаще (P φ <0,05) регистрировалась тяжелая степень церебральной ишемии. При ВПГ-инфекции крайне тяжелое состояние отмечалось у 22,2% детей III группы и у 17,6% новорожденных IV группы (P φ >0,05). В V и VI группах данный показатель составил 28,6% и 33,3 % соответственно. Практически все дети были переведены из родильных домов в тяжелом и крайне тяжелом состоянии на 3-и–5-е сутки жизни. Во всех группах тяжесть была обусловлена неврологической симптоматикой. Анализ клинических данных позволил установить, что во II и VI группах статистически значимо чаще (P φ <0,01) отмечались признаки дыхательной недостаточности, определяющие тяжесть состояния (75,1% и 76,2% соответственно) по сравнению с I группой (47,2%). В этих же группах в 3,9 и в 3,2 раза чаще

($P < 0,001$) по сравнению с I группой (19,4%) регистрировались симптомы инфекционного токсикоза. У 13,9% детей симптомы инфекционного токсикоза появились позже.

При ЦМВИ первое ранговое место по частоте повреждения органов занимало поражение ЦНС, на втором – патология бронхо-легочной системы (развитие пневмонии у детей со смешанной инфекцией отмечалось в 1,8 раза чаще – в 71,8% случаев; $P < 0,01$), на третьем месте – поражение почек в виде пиелонефрита (наблюдалось у 27% новорожденных I группы и у 37,5% детей II группы). Для детей с ЦМВИ были характерны: нарушение микроциркуляции в 91,9% и 90,6% случаев ($P > 0,05$), отечный синдром (у 32,4% новорожденных I группы и у 43,7% детей II группы; $P > 0,05$), гепатомегалия (у всех детей II группы – в 1,8 раза чаще, чем в I группе; $P < 0,01$), спленомегалия (в I группе – в 48,6%, во II группе – в 59,4% случаев; $P < 0,05$). При микст-инфекции (вирусно-вирусные или вирусно-бактериальные) в 2,9 раза и в 3,1 раза чаще по сравнению с I группой ($P < 0,01$) развивались генерализованные формы (в 78,1% и в 83,6% случаев). По-видимому, это обусловлено тропностью каждого из ассоциированных возбудителей, более глубокими нарушениями в клеточном звене иммунитета и цитокиновой системе.

Среди локализованных форм ЦМВИ преимущественно встречалось поражение ЦНС. При смешанной инфекции в 2 раза чаще (в 37,9%; $P < 0,05$) наблюдался судорожный синдром, и в раннем восстановительном периоде преобладал синдром двигательных нарушений. Тяжелое поражение мозга в виде энцефалита отмечалось у 24,3% новорожденных с моно- и у 31,7% детей со смешанной инфекцией. У 37,8% детей I группы и у 53,1% детей с микст-ЦМВИ-инфекцией в динамике развилась гидроцефалия, причем при ассоциированной форме в 18,7% случаев (в 6,9 раза чаще; $P < 0,01$) имела место смешанная форма гидроцефалии.

В случае микстинфекции, сопряженной с ВПГ-инфекцией (IV группа), в 2,7 раза чаще развивались генерализованные формы (у 44,1% детей; $P < 0,01$). Частота развития симптомов инфекционного токсикоза была в 1,7 раза выше (58,8%), а дыхательной недостаточности – в 1,5 раза выше (64,7%), чем в III группе ($P < 0,05$). Подъемы температуры тела были более характерны для сочетания ВПГ-инфекции с ЦМВИ и отмечались преимущественно у детей IV и VI групп, что, по-видимому, было связано с влиянием ЦМВ. У всех детей из IV и V групп установлено поражение ЦНС. В IV, V и VI группах судорожный синдром развивался в 6,2; 4,8 и в 5,5 раза чаще соответственно, чем при моноинфекции ($P < 0,001$), а тяжелое поражение мозга в виде менингоэнцефалита наблюдалось почти с такой же частотой, как и у больных III группы (в 23,4%, 28,6% и в 25,0% случаев соответственно).

В IV и V группах пневмонии развивались в 64,7% и в 66,7% – чаще в 2,4 и в 2,2 раза ($P < 0,05$), чем в

III группе, и были сопряжены с бактериальной инфекцией. Гепатомегалия встречалась у 82,4%, 71,1% и 68,8% детей IV, V и VI групп соответственно. Установлено, что при вирусно-вирусной инфекции с активным течением ЦМВИ и ВЭБ-инфекции в 2,6-3,3 раза чаще имел место синдром гипербилирубинемии ($P < 0,01$), чем при моноинфекции и вирусно-бактериальной ассоциации. Для смешанной инфекции было характерно развитие вторичных геморрагических инсультов у 21,9% пациентов – в 4 раза чаще, чем при моноинфекции ($P < 0,01$) и имело место при сочетании ВПГ-инфекции с бактериальной инфекцией.

Исследование крови показало, что для моноинфекции более характерна лейкопения, которая встречалась в 16,2% случаев (в 5,2 раза чаще, чем во II группе; $P < 0,01$) и моноцитоз (в 54,1% случаев – в 2,5 раза чаще по сравнению со II группой), а для микстинфекции – снижение тромбоцитов (у 18,8% детей – в 6,9 раза чаще, чем в I группе). В клеточном составе спинномозговой жидкости установлено преобладание лимфоцитов, содержание которых при смешанной форме было выше в 2,2 раза ($P < 0,05$).

Для установления изменений в цитокиновой системе, играющей связующую и регулирующую роль при реализации иммунного ответа, изучено содержание TNF- α , IL-4 и IFN- α в сыворотке крови. Установлено, что герпесвирусная инфекция при среднетяжелом течении и тяжелом течении без генерализации сопровождалась усиленным синтезом TNF- α , уровень которого составил при моноинфекции 68,5 $\pm$ 4,3 pg/ml, при микстинфекции – 120,5 $\pm$ 13,8 pg/ml со статистически значимым превышением показателя контроля (8,8 $\pm$ 1,3 pg/ml; $P < 0,01$). Отмечалось незначительное изменение IL-4 (соответственно 140,6 $\pm$ 14,0 pg/ml и 165,5 $\pm$ 12,3 pg/ml против 125,8 $\pm$ 12,9 pg/ml в контроле; $P > 0,05$). Уровень IFN- α составил 15,8 $\pm$ 1,8 pg/ml при моно- и 23,4 $\pm$ 2,1 pg/ml при смешанной инфекции, что значительно превышало контрольное значение (6,8 $\pm$ 0,8 pg/ml; $P < 0,05$). В ликворе при герпесвирусных инфекциях (моно- и микст-форме) медиана TNF- α составила 29,1 pg/ml, а при вирусной инфекции, сопряженной с бактериальной инфекцией, – 43,6 pg/ml.

Тяжелое течение с генерализацией процесса (как при моно-, так и микст-инфекции) характеризовалось более высоким содержанием представленных цитокинов у 75% детей: уровень TNF- α был выше контроля в 6,7 раза и 7,2 раза ($P < 0,01$) на фоне ограниченного синтеза IL-4 (65,8 $\pm$ 5,9 pg/ml; $P < 0,05$) и IFN- α (3,2 $\pm$ 0,3 pg/ml; $P < 0,05$). Обращал на себя внимание тот факт, что у остальных 15 детей, находившихся в крайне тяжелом состоянии, из которых у 4 наступил летальный исход, на фоне прогрессивного течения болезни отмечался крайне низкий уровень сывороточного TNF- α (4,5 $\pm$ 0,3 pg/ml; $P < 0,05$) на фоне низкого содержания IL-4 (34,8 $\pm$ 2,9 pg/ml; $P < 0,05$) и IFN- α (2,0 $\pm$ 0,19 pg/ml; $P < 0,05$). Однако у этих детей в ликворе медиана TNF- α составила 19,1 pg/ml при

герпесвирусной инфекции и 25,4 pg/ml при вирусно-бактериальной инфекции.

Полученные данные свидетельствовали о срыве адаптационно-компенсаторных механизмов на фоне усиленной антигенной нагрузки. Низкий уровень изученных нами цитокинов или их значительное снижение в динамике на фоне нарастающей симптоматики может свидетельствовать об истощении резервов иммунной системы и ее параличе, которые сопровождаются как снижением количества иммунокомпетентных клеток, продуцирующих цитокины, так и падением их функциональной активности.

ВЫВОДЫ

1. Установлены факторы риска развития герпесвирусных инфекций у детей, к которым в первую очередь следует отнести осложненный акушерский анамнез, наличие хронических воспалительных заболеваний урогенитального тракта, гормональную и хроническую фетоплацентарную недостаточность.

2. Герпесвирусные инфекции сопровождаются частым поражением ЦНС, что определяет тяжесть состояния ребенка. Наиболее тяжелая клиническая картина с вовлечением различных органов и систем наблюдается при герпетической инфекции, ассоциированной с бактериальными инфекциями, что приводит к более частой генерализации процесса.

3. Герпесвирусные инфекции (особенно ЦМВИ и ВЭБ-инфекция) вносят важный вклад в формирование синдрома гипербилирубинемии.

4. Оценка состояния цитокиновой системы на основе определения содержания TNF- α , IL-4 и IFN- α в сыворотке крови и ликворе имеет важное диагностическое и прогностическое значение.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барашнев Ю.И. Перинатальная неврология. – М.: Триада-Х, 2001. – 640 с.
2. Барычева Р.И. Особенности иммунной адаптации у детей раннего возраста с врожденной цитомегаловирусной инфекцией // Рос. вестн. перинатол. и педиат. – 2004. – № 3. – С. 48-54.
3. Врожденные, перинатальные и неонатальные инфекции / Под ред. А.Гриноу, Д. Осборна, Ш.Сазерленд. – М.: «Медицина», 2000. – 287 с.
4. Долгих Т.И., Черешнев В.А. Распространенность и диагностика цитомегаловирусной инфекции в Омской области // Южно-Росс. мед. журн. – 1999. – № 2. – С. 20-22.
5. Кудашов Н.И. Особенности терапии герпетического поражения головного мозга у новорожденных // Рус. мед. журнал. – 2005. – Т. 13. – С. 1158-1163.
6. Малкова Е.М., Помогаева А.П., Кравец Е.Б. и др. Внутриутробные инфекции у новорожденных: использование генодиагностики, клинические особенности и подходы к лечению. // Педиатрия. – 2003. – № 1. – С. 36-40.
7. Мальцев С.В., Ожегов А.М., Мясникова Л.С., Шакирова Э.М. Клинико-иммунологические особенности цитомегаловирусной и смешанной с ней инфекции у детей грудного возраста // Казанский мед. журн. – 1998. – Т. 79. – № 6. – С. 411-415.
8. Cimolai N., Thomas E.E., Tan R., Hill A. Utilization of herpes simplex PSA assays for cerebrospinal fluid in a

pediatric health care setting. // Can. J. Microbiol. – 2001. – 47 (5). – P. 392-396.

9. Damato E.J., Winnen C.W. Cytomegalovirus infection: perinatal implications. // J. Obstet. Gynecol. Neonatal. Nurs. – 2002. – 31 (1). – P. 86-92.
10. Daniel E., Gail J., Christopher T et al. Early predictors of neurodevelopment outcome in symptomatic congenital cytomegalovirus infection. // J. Pediatr. – 2001. – 138. – P. 325-331.

CLINICAL-IMMUNOLOGIC CHARACTERISTICS OF MIXED HERPES VIRAL INFECTIONS IN BABIES

T.I. Dolgikh, S.G. Drozdova, T.V. Kadtsyna, Ye.A. Gashina, Ye.A. Sinibok, A.A. Malygina

SUMMARY

Aimed at optimization of herpes viral infections diagnosis, 186 babies who had mono- or mixed herpes viral infections were examined. Their blood, liquor, urine, saliva and materials that were scrapped off in the damaged focus (skin, mucous membrane of the mouth) were studied by methods of IFA, RIF, PCR. Clinical and immunologic parallels were studied. Levels of TNF- α , IL-4 and IFN- α in blood serum and in liquor were assessed. Generalized form of mixed infection was characterized by low contents of TNF- α , IL-4 and IFN- α in blood serum and higher level of TNF- α in the liquor which in the setting of increased antigen load pointed to the disruption of mechanisms of adaptation and compensation and bad prognosis.

Key words: herpes viral infections, mixinfection, children.

УВАЖАЕМЫЕ АВТОРЫ РУКОПИСЕЙ, ПРЕДСТАВЛЯЕМЫХ В «СИБИРСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ»!

С целью повышения оперативности взаимодействия между редакцией «СМЖ» и авторами с 2003 г. в каждой рукописи должен указываться электронный адрес (e-mail) лица, ответственного за переписку с редакцией «СМЖ».

Обработка рукописей без e-mail задерживает её публикацию в очередных номерах.

Приоритет в публикации рукописей отдается авторам, имеющим текущую годовую подписку на «СМЖ».

Переписка с авторами осуществляется по e-mail: medicina@tomsk.ru