

## КЛИНИКО-ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ДНК ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ДОНОШЕННЫХ И НЕДОНОШЕННЫХ НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

*А. К. МаксUTOва, Т. В. Белоусова, А. В. Ефремов, Е. Н. Самсонова  
ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет  
Росздрава» (г. Новосибирск)*

В статье представлены результаты обследования доношенных и недоношенных новорожденных детей с внутриутробной ДНК вирусной инфекцией и проявлениями синдрома системного воспалительного ответа. Лабораторная диагностика внутриутробной генерализованной инфекции проводилась на ранних этапах наблюдения за детьми в отделении реанимации и интенсивной терапии, отделениях патологии новорожденных, инфекционном отделении для недоношенных. Верификация диагноза осуществлялась с использованием серологических и молекулярно-биологических методов: методом иммуноферментного анализа и обнаружением ДНК-вирусов методом полимеразной цепной реакции. Определение содержания цитокинов ИФН- $\gamma$ , ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-4 и ИЛ-2 в сыворотке крови выполнялось иммуноферментным методом. Показаны основные нозологические формы проявления внутриутробной инфекции и особенности цитокинового профиля у доношенных и недоношенных детей.

*Ключевые слова:* внутриутробная инфекция, герпесвирусная инфекция, цитомегаловирусная инфекция, доношенные и недоношенные дети, цитокины.

**Ефремов Анатолий Васильевич**, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, заведующий кафедрой патологической физиологии и клинической патофизиологии ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет Росздрава», телефон рабочий: 8 (383) 225-39-78

**Самсонова Елена Николаевна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет Росздрава», телефон рабочий: 8 (383) 225-39-78

**Белоусова Тамара Владимировна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой педиатрии и неонатологии ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет Росздрава», телефон рабочий: 8 (383) 346-22-45

**Максутова Айнура Каратаевна**, аспирант кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет Росздрава», телефон рабочий: 8 (383) 225-39-78

**Введение.** Более чем полувековое изучение врожденных внутриутробных инфекций выявило своеобразие этой патологии. К сожалению, и в наши дни мы не имеем достоверных представлений о распространенности перинатальных инфекций, равно как и о вероятности заражения плода от инфицированной матери. Заключение о частоте встречаемости той или иной инфекционной перинатальной патологии выносят обычно ретроспективно, на основании материалов о выявлении больных детей. Тотального скрининга на перинатально значимые инфекции

нет ни в одной стране мира. В результате не учитываются случаи, когда у инфицированных матерей родились здоровые дети. Искажению показателей инфицированности, заболеваемости, риска вертикальной передачи возбудителей способствует и отсутствие микробиологического мониторинга всех плодов при прерванной беременности, обязательного микробиологического изучения тканей мертворожденных детей, плацент во всех случаях преждевременных, осложненных родов, а также родов, завершившихся рождением больного, слабого или маловесного ребенка.

В последние годы возрастание количества выявленных внутриутробных инфекций в перинатологии связано с появлением более информативных методов диагностики и расширением спектра изучаемых возбудителей. С другой стороны, истинное увеличение частоты этой патологии может быть обусловлено возрастанием инфицированности женщин фертильного возраста. В человеческой популяции увеличилась прослойка так называемых иммунодефицитных лиц, у которых в определенных стрессовых ситуациях легко возникают инфекционно-воспалительные осложнения. Транзиторный частичный иммунодефицит, возникающий при беременности, обуславливает снижение защитных сил организма и предрасполагает наряду с другими факторами к развитию бактериальной и вирусной инфекции. Другим фактором является активное внедрение в практику антибиотиков широкого спектра действия, что ведет к заметному нарушению взаимоотношений организма хозяина и его микрофлоры [1].

В современной литературе большое количество работ посвящено исследованию роли моноцитарно-макрофагального звена в регуляции иммунного ответа новорожденных детей [4]. Будучи сформированной уже на ранних стадиях онтогенеза, способность моноцитов к продукции провоспалительных цитокинов в физиологических условиях не зависит от гестационного возраста [3, 4, 6].

Влияние цитокинов на клиническую картину и течение заболеваний у новорожденных детей осуществляется через воздействие на центральную нервную систему, иммунную, эндокринную и сердечно-сосудистую системы, функцию печени, гемопоэз и т. д.

Большая частота заболеваний ДНК-вирусной инфекцией у взрослых, высокий риск инфицирования плода и новорожденного, неблагоприятные исходы для ребенка – все это делает актуальным изучение этиологии и патогенеза внутриутробной ДНК-вирусной инфекции и возможности своевременного поиска этиотропного и патогенетического лечения у данной категории новорожденных детей, что позволит снизить летальность и инвалидность.

**Материалы и методы.** Под наблюдением находилось 120 детей с

внутриутробной генерализованной инфекцией вирусной этиологии, из них 60 детей родились доношенными и 60 детей – недоношенными.

Наблюдение за инфицированными детьми осуществлялось в динамике, начиная с первых дней поступления в стационар, и включало в себя выявление клинических признаков врожденной генерализованной инфекции, определение гематологических, биохимических, иммуногенетических показателей крови, показателей системы гемостаза, исследование ликвора, проведение УЗИ паренхиматозных органов и мозга. Отбор детей в группы исследования осуществлялся на основании клинических проявлений внутриутробной генерализованной инфекции вирусной этиологии в периоде новорожденности, а также по гестационному возрасту и массе тела при рождении. Лабораторная диагностика внутриутробной генерализованной инфекции проводилась на ранних этапах наблюдения за детьми в отделении реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), отделениях патологии новорожденных, инфекционном отделении для недоношенных.

Верификация диагноза осуществлялась с использованием серологических и молекулярно-биологических методов с определением уровня Ig M и IgG к ВПГ 1, 2 типов и ЦМВ методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием реагентов ProCon («Протеиновый контур», Санкт-Петербург, Россия) и обнаружением ДНК-вирусов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) у детей (тест системы ЗАО «Вектор-Бест»).

Определение содержания цитокинов ИФН- $\gamma$ , ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-4 и ИЛ-2 в сыворотке крови выполнялось иммуноферментным методом с использованием реагентов ProCon («Протеиновый контур», Санкт-Петербург, Россия). Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы «BIOSTAT», «SPSS». Анализ результатов проводили с помощью сравнения вариационных рядов, параметрического критерия Стьюдента (p).

**Результаты исследования и их обсуждение.** При анализе результатов клинического обследования детей среди основных нозологических форм у доношенных были выявлены три основные формы (либо их сочетание): фетальный гепатит – у 69,2 %, врожденная пневмония – у 61,5 % и менингоэнцефалит – у 46,1 % детей. У недоношенных детей нозологические формы распределились следующим образом: врожденная пневмония у 41 (91,1 %), менингоэнцефалит у 36 (80 %) и тубулоинтерстициальный нефрит у 27 (60 %) детей. Верификация возбудителей при помощи ИФА и метода ПЦР дала следующие результаты (табл. 1).

*Таблица 1*

**Верификация диагнозов по данным ПЦР, ИФА,**

**по этиологической структуре**

| Вид возбудителя                                           | Доношенные дети | Недоношенные дети |
|-----------------------------------------------------------|-----------------|-------------------|
| Ассоциированная вирусная (ЦМВ + ВПГ)                      | 2 (15,4 %)      | 4 (8,94 %),       |
| Вирус простого герпеса                                    | 2 (15,4 %)      | 9 (20 %)          |
| Цитомегаловирус                                           | 4 (30,8 %)      | 10 (22,2 %)       |
| Микст этиологии TORCH + бактериальной                     | 3 (23 %)        | 19 (42,2 %)       |
| Микст этиологии TORCH + бактериальной + грибковой флоры   | 4 (30,8 %)      | 8 (17,8 %)        |
| Микст этиологии TORCH + наложение нозокамиальной инфекции | 3 (23 %)        | 14 (31,1 %)       |
| Реализацией в ранний неонатальный сепсис                  | 5 (38,5 %)      | 1 (2,2 %)         |
| Умершие                                                   | –               | 8 (17,8 %)        |
| Всего                                                     | 13 (100 %)      | 45 (100 %)        |

Верификацию проводили в ОРИТ и отделении патологии новорожденных. При верификации диагноза во время нахождения ребенка в условиях ОРИТ возбудители были обнаружены у 30,8 % доношенных и 28,9 % недоношенных детей. Затем после стабилизации состояния и перевода детей в отделение патологии новорожденных снова проводили верификацию и обнаружили подтверждение наличия возбудителей у 62 % доношенных и 31,1 % недоношенных детей. Причем ДНК-вирусы обнаруживались в большинстве случаев в моче, а не в крови. Таким образом, есть основание предполагать, что подтверждение этиологии внутриутробной инфекции наиболее возможно в более поздние сроки течения инфекционного процесса, что, возможно, связано со стабилизацией работы органов и систем, большим созреванием и развитием иммунной системы. И, наоборот, трудность выявления в начальные сроки инфекционного процесса, вероятно, связана со свойствами вирусов (способностью их ускользать от иммунного надзора), незрелостью самой иммунной системы особенно у недоношенных детей (невозможностью реализовать полноценный иммунный ответ). Также из табл. 1 видно, что в большинстве случаев имела место смешанная вирусно-бактериальная инфекция.

Далее у детей с клиническими проявлениями внутриутробной инфекции вирусной этиологии был определен уровень про- и противовоспалительных цитокинов (табл. 2).

Таблица 2

**Содержание про- и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови у доношенных и недоношенных новорожденных детей**

| Показатель, пг/мл | Доношенные, n = 60 | Недоношенные, n = 60 | t      | p          |
|-------------------|--------------------|----------------------|--------|------------|
| ИФН- $\gamma$     | 181,6 $\pm$ 7,786  | 139,9 $\pm$ 4,626    | 4,609* | p = 0,000* |
| ИЛ-1 $\beta$      | 109,4 $\pm$ 9,34   | 83,55 $\pm$ 4,537    | 2,491* | p = 0,014* |
| ФНО- $\alpha$     | 29,94 $\pm$ 2,169  | 23,23 $\pm$ 1,544    | 2,520* | p = 0,013* |
| ИЛ-6              | 32,24 $\pm$ 2,781  | 25,89 $\pm$ 2,514    | 1,695  | p = 0,093  |
| ИЛ-4              | 31,23 $\pm$ 2,946  | 31,23 $\pm$ 2,166    | 0,001  | p = 0,999  |
| ИЛ-2              | 20,73 $\pm$ 1,285  | 20,47 $\pm$ 0,5795   | 0,185  | p = 0,853  |

Примечание: \* – достоверные различия между группами (p < 0,05).

У доношенных детей отмечались более высокие показатели содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови, таких как ИФН- $\gamma$ , ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  (p < 0,005) по сравнению с аналогичными показателями у недоношенных детей, что свидетельствует о более выраженном воспалительном ответе у доношенных детей с врожденной генерализованной вирусной инфекцией. При этом цитокины из факторов защиты организма от инфекций могут превратиться в фактор агрессии, способствуя развитию деструктивных процессов и формированию полиорганной недостаточности.

Более низкие показатели ИФН- $\gamma$ , ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  в сыворотке крови у недоношенных детей можно объяснить как меньшим количеством иммунокомпетентных клеток, синтезирующих провоспалительные цитокины, так и их низкой функциональной активностью у данной группы пациентов. Уровни содержания цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-2 статистически не значимы как у доношенных, так и недоношенных детей (p > 0,005). Уровни противовоспалительного цитокина ИЛ-4 также были статистически не значимы между двумя группами новорожденных детей (p > 0,005). При сравнении соотношения между ИФН- $\gamma$  и ИЛ-1 $\beta$  у доношенных – ИФН- $\gamma$  181,6  $\pm$  7,786 и ИЛ-1 $\beta$  109,4  $\pm$  9,34 (p < 0,005), так и у недоношенных – ИФН- $\gamma$  139,9  $\pm$  4,62 и ИЛ-1 $\beta$  83,55  $\pm$  4,537 (p < 0,005) статистически значимо преобладал уровень ИФН- $\gamma$  (p < 0,005), что вероятно является одним из подтверждений вирусной этиологии заболевания. Но при этом содержание ИФН- $\gamma$  в сыворотке крови у недоношенных детей было ниже, чем у доношенных. Известно, что одним из индукторов синтеза ИФН- $\gamma$  является

ИЛ-2, но содержание данного цитокина достоверно не различалось у доношенных и недоношенных детей ( $p > 0,005$ ). Следовательно, можно предположить, что у недоношенных детей вирусы в большей степени подавляют интерферонсинтезирующий механизм клеток за счет угнетения синтеза активирующих белков и протеинкиназы. Повреждение иммунной системы в период раннего онтогенетического развития может привести к возникновению врожденных иммунных дефектов и являться фоном для дальнейшей репродукции вируса развития рецидивирующих заболеваний различной локализации [3, 4, 5].

### Список литературы

1. *Вельтищев Ю. Е.* Становление и развитие иммунной системы у детей. Иммунная недостаточность. Иммунодиатезы / Ю. Е. Вельтищев // Российский вестник перинатологии и педиатрии (приложение). – 1997.
2. *Дегтярева М. В.* Роль интерлейкина-1 $\beta$  и фактора некроза опухоли- $\alpha$  у новорожденных детей в норме и при патологии / М. В. Дегтярева, Д. Н. Дегтярев, Н. Н. Володин // Педиатрия. – 1996. – № 1. – С. 93–97.
3. *Кетлинский С. А.* Современные аспекты изучения цитокинов / С. А. Кетлинский // Russian J. of Immunology. – 1999. – № 4. – С. 46–52.
4. *Цинзерлинг В. А.* Перинатальные инфекции. Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинко-морфологических сопоставлений : практическое руководство / В. А. Цинзерлинг, В. Ф. Мельникова. – СПб. : «Элби СПб», 2002. – 352 с.
5. *Benitz W. E.* Serial Serum C-Reactive Protein Levels in the Diagnosis of Neonatal infection / W. E. Benitz, M. Y. Han, A. Madan // Pediatrics. – 1998. – Vol. 102. – № 4. – P. 41.
6. *Kavelaars A.* Altered Immune Function in Human Newborns after Prenatal administration of Betametasone : Enhanced Natural Killer Cell Activity and Decreased T-cell Proliferation in Cord Blood / A. Kavelaars, G. Van Der Pompe, J. M. Bakker // Pediatric Research. – 1999. – Vol. 45, N 3.