

УДК 618.3:616-053.31-097:616.98

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ СТАТУС НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ С TORCH-ИНФЕКЦИЕЙ

ЖДАНОВИЧ А.И., КОЛОМИЙЧЕНКО Т.В., ЖДАНОВИЧ Р.И.

Государственное учреждение «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии Национальной академии медицинских наук Украины»

Внутриутробные инфекции в последние годы определяют уровень младенческой смертности. При этом актуальность данной проблемы обусловлена высокой частотой нарушений здоровья у таких детей, приводящих к инвалидизации и снижения качества жизни в целом [1, 2]. Особенно это касается инфекций, входящих в состав комплекса TORCH, среди которых одно из первых мест по частоте и негативным последствиям для ребенка занимает герпесвирусная инфекция [3-4]. Несмотря на многочисленные исследования, проблема герпесвирусных инфекций (ГВИ) не теряет актуальности, приобретая со временем новое звучание [5-8].

ГВИ в последнее время относят к болезням иммунной системы [9, 10], поскольку частота и тяжесть заболевания более выражены у иммунокомпromетированных лиц, а также у новорожденных в связи с незрелостью их иммунной системы [11]. Герпесвирусная инфекция развивается преимущественно в условиях иммунодефицита (первичного или вторичного). Кроме того, вирусы сами по себе в организме хозяина создают состояние иммунодепрессии [12].

Цель исследования – изучить состояние иммунитета у новорожденных от матерей с герпесвирусной инфекцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведены исследования у 190 новорожденных, из них 140 детей (основная группа), родившихся у женщин, инфицированных герпесвирусами - цитомегаловирусом (ЦМВ) и вирусом простого герпеса 2 типа (ВПГ 2). Контрольную группу составили 50 новорожденных от соматически здоровых женщин. Обследованные новорожденные разделены на 3 группы: 1-ю составили 50 детей, родившихся у матерей, инфицированных ВПГ 2, 2-ю - 50 детей, родившихся у матерей, инфицированных ЦМВ, 3-ю - 40 детей, родившихся у матерей, инфицированных ЦМВ и ВПГ 2.

Вирусологическое обследование проводили на 5-7 сутки после рождения. Материалом для обследования была сыворотка периферической крови, в которой методом иммуноферментного анализа определяли специфические антивирусные антитела классов G, M. Применяли тест-системы IgM и IgG фирмы «Novum

Diagnostica» (Германия) и стриповый иммуноферментный анализатор «Stat fax -300» (США) при длине волны 450 нм.

Для подтверждения внутриутробного инфицирования (ВУИ) новорожденного герпесвирусами применяли метод амплификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Исследуемый материал - сыворотка крови.

Диагноз внутриутробного инфицирования (ВУИ) у новорожденных верифицировали на основании клинических, серологических, иммунологических, ультразвуковых исследований, морфологических и иммуногистохимических исследований плаценты.

Определение лимфоцитарных субпопуляций в крови проводили по методу двухцветной проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител (Becton Dickinson, США). Определялись показатели: CD3+ – Т-лимфоциты, CD19+ – В-лимфоциты, CD3+4+ – Т-хелперы, CD3+8+ – цитотоксические Т-лимфоциты (Т-киллеры), CD3–CD16/56+ – естественные киллеры (ЕК).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наблюдение за клиническим состоянием детей от матерей, инфицированных герпесвирусами показало следующее. 77,1 % новорожденных родились в асфиксии различной степени тяжести, причем 8,9 % - в асфиксии тяжелой степени. Установлено снижение физического развития детей: 17,5 % детей родились с низкой массой тела (от 2001 до 2500 г), у 23,4% детей отмечались признаки задержки роста плода. Среди дизадаптационных синдромов у новорожденных ведущее место занимали неврологические нарушения (45,0 %) и синдром дыхательных расстройств (25,4 %), чаще развивалась конъюгационная желтуха (34,6 %). У 20 (14,3 %) детей диагностирована внутриутробная пневмония различной степени тяжести.

Диагностически значимые уровни IgG антител (от 0,300 до 1,955 IE / ml) обнаружены у 26 (52,0 %) из 50 новорожденных с ВПГ 2, и 21 (42,0 %) новорожденных из 50 от матерей с ЦМВ (таблица 1). У 31 (77,6 %) детей от матерей, инфицированных сочетанной инфекцией, установлены диагностически значимые уровни

IgG: у 21 - к ВПГ 2 и у 17 - к ЦМВ, среди них у 14 - одновременно к ВПГ-2 и ЦМВ.

Кроме Ig G антител у всех новорожденных определяли наличие Ig M антител. Если у здоровых новорожденных Ig M появляется не ранее чем через 1 месяц после рождения, то специфические Ig M антитела к ВПГ-2 и ЦМВ определяются на первой неделе после рождения.

Результаты исследования показали, что диагностически значимые уровни Ig M антител в крови новорожденных обнаружены в концентрациях от 0,200 до 0,300 IE/ml у 15 (57,7 %) из 26 детей от матерей с ВПГ 2, 12 (57,2 %) детей от матерей с ЦМВ и у 18 (58,1%) при сочетании 2-х инфекций (таблица 2).

Таблица 1

Выраженность диагностически значимых показателей Ig G у обследованных новорожденных, абс.ч. (%)

Группа обследованных детей	Диагностически значимые показатели Ig G, IE/ml			
	Всего	0,300 - 0,400	0,400 - 0,500	0,500 - 1,955
1-я, n = 50	26 (100)	14 (53,9)	6 (23,1)	6 (23,1)
2-я, n = 50	21 (100)	10 (47,6)	5 (23,8)	6 (28,6)
3-я, n = 40	31 (100)	16 (51,6)	8 (25,8)	7 (22,6)

Одним из основных и наиболее чувствительных диагностических тестов наличия герпесвирусной инфекции является полимеразная цепная реакция. Среди обследованных новорож-

денных ПЦР в крови была положительной у 20 (76,9 %) детей от матерей с ВПГ 2, у 16 (76,2 %) детей от матерей с ЦМВ и 24 (77,4%) от матерей со смешанной инфекцией.

Таблица 2

Результаты исследования Ig M и ПЦР у обследованных новорожденных, абс.ч.(%)

Группа обследованных детей	Положительные реакции			
	Всего	Только Ig M	Только ПЦР	Одновременно Ig M и ПЦР
1-я, n = 50	26 (100)	6 (23,1)	11 (42,3)	9 (34,6)
2-я, n = 50	21 (100)	5 (23,8)	9 (42,9)	7 (33,3)
3-я, n = 40	31 (100)	7 (22,6)	13 (41,9)	11 (35,5)

Учитывая то, что у новорожденных антитела класса IgG являются материнскими, а их концентрация определяется эффективностью транс-плацентарной передачи, для иммунологической характеристики новорожденных, целесообразно применять соотношение концентраций специфических IgG в сыворотке крови матери и ребенка. На основе проведенных нами наблюдений эмпирически установлено, что значимым можно считать соотношение выше 0,5.

Анализ данных, полученных при определении абсолютного количества лимфоцитов и их субпопуляций в периферической крови новорожденных на 5-7 день жизни, показал следующее (таблица 3). Новорожденные основных групп имели достоверные изменения большинства изученных параметров относительно группы контроля. Так, абсолютное количество лимфоцитов и всех исследуемых субпопуляций было достоверно снижено у детей всех групп без признаков ВУИ, кроме 3-й, по сравнению с показателями детей контрольной группы. У детей от матерей с сочетанной инфекцией от-

мечалась определенная активация клеточного иммунитета с повышением содержания В-лимфоцитов и ЕК, что, возможно, и противодействовало реализации ВУИ.

У новорожденных с проявлениями ВУИ отмечалось значительное снижение количества Т-лимфоцитов и Т-хелперов относительно контроля и повышение Т-киллеров, что свидетельствовало о дисбалансе клеточного ответа.

Анализ относительного количества субпопуляций лимфоцитов показал (таблица 4), что обнаруженные изменения происходят не только за счет изменений абсолютных показателей, но и за счет перераспределения в лимфоцитарных субпопуляциях.

Из результатов исследования видно, что иммунологические показатели у новорожденных 1-й и 2-й группы на 5-7 сутки жизни характеризовались сниженным относительным количеством CD3+ Т-лимфоцитов и CD3+4+ Т-хелперов. При этом доля Т-киллеров несколько повышалась, а также, соответственно снижалось соотношение CD4+/CD8+ по сравнению с показателями де-

Таблица 3

Абсолютное количество лимфоцитов и субпопуляций лимфоцитов в крови новорожденных от инфицированных матерей на 5-7 сутки жизни

Группа обследованных	ВУИ	Абсолютное количество клеток, x10 ⁹ /л					
		Лимфоциты	CD3+	CD19+	CD16/56+	CD3+4+	CD3+8+
1-я	да	(3,19±0,11)*	(1,8±0,09)*	(0,37±0,09)*	0,58±0,02	(1,13±0,04)*	1,09±0,07
	нет	(3,15±0,20)*	(2,08±0,21)*	0,99±0,18	0,42±0,05	2,20±0,09	0,88±0,08
2-я	да	(3,13±0,10)*	(1,73±0,07)*	(0,73±0,05)*	(0,37±0,03)*	(1,14±0,05)*	(0,78±0,06)*
	нет	(3,15±0,23)*	(1,89±0,14)*	(0,80±0,09)*	(0,34±0,04)*	(1,15±0,08)*	(0,77±0,07)*
3-я	да	3,21±0,22	(2,03±0,09)*	(0,75±0,12)*	(0,31±0,04)*	(1,11±0,09)*	1,1±0,07
	нет	3,80±0,51	2,43±0,17	(1,93±0,09)*	0,6±0,05	2,05±0,04	(1,57±0,1)*
Контрольная		4,05±0,34	2,65±0,24	1,25±0,13	0,50±0,05	2,25±0,01	1,00±0,05

Примечание. * - Разница достоверна относительно показателя новорожденных контрольной группы, p<0,05.

Таблица 4

Относительное количество субпопуляций лимфоцитов и соотношение хелперы/ супрессоры в крови новорожденных от инфицированных матерей на 5-7 сутки жизни, %

Группа обследованных	ВУИ	Относительное содержание клеток					
		CD3+	CD19+	CD16/56+	CD3+4+	CD3+8+	CD4+/CD8+
1-я	да	(57,4±1,1)*	(28,0±1,0)*	(16,3±1,6)*	(35,3±1,9)*	24,8±1,6	(1,46±0,11)*
	нет	60,4±1,8	26,1±1,4	13,1±1,0	41,2±1,2	22,1±1,3	1,84±0,14
2-я	да	(59,0±0,6)*	23,2±0,9	11,8±0,8	(35,7±1,2)*	23,4±1,2	(1,52±0,15)*
	нет	61,3±1,7	25,2±1,6	10,9±1,2	(38,5±1,5)*	24,7±1,6	(1,68±0,18)*
3-я	да	60,8±1,5	22,5±1,7	10,6±1,0	(34,7±1,6)*	(44,13±1,9)*	(0,92±0,16)*
	нет	61,5±2,0	(28,7±0,1)*	14,0±0,7	40,6±2,0	26,2±2,9	2,12±0,15
Контрольная		62,5±1,0	25,0±1,3	12,5±1,1	44,0±1,5	21,5±1,9	2,20±0,18

Примечание. * - Разница достоверна относительно показателя новорожденных контрольной группы, p<0,05.

тей контрольной группы, что наряду со снижением доли В-клеток и естественных киллерных клеток CD16/56+ у этих детей может быть свидетельством иммуносупрессии и низкой функциональной активности Т-хелперных лимфоцитов. Если для подгрупп детей без признаков ВУИ такие изменения прослеживались только как тенденция, то при подтвержденном инфицировании наблюдались достоверные изменения показателей. У детей без признаков ВУИ 3-ей группы изменения клеточного иммунитета были менее выраженными при достоверном повышении относительного количества В-клеток и нормальном балансе иммунорегуляторного индекса (Т-хелперы/Т-киллеры), что может рассматриваться как определенная активация противовирусного иммунитета.

Таким образом, при внутритрубном инфицировании герпесвирусами у большинства новорожденных отмечается иммуносупрессия, что при наличии клинических признаков инфицирования является теоретическим основанием для включения в комплекс терапии таких детей иммунокорректирующих препаратов.

ВЫВОДЫ

Иммунологические показатели новорожденных от матерей с моноинфекцией характеризовались сниженным относительным количеством Т-лимфоцитов (CD3+) и Т-хелперов (CD3+4+). При этом доля Т-киллеров (CD3+CD8+) несколько повышалась, а также, соответственно снижалось соотношение CD3+CD4+/CD3+CD8+, что наряду со снижением доли В-клеток (CD19+) и

естественных клеток-киллеров может быть свидетелем иммуносупрессии инфекционного процесса. У детей без признаков ВУИ от матерей с сочетанной инфекцией достоверное увеличение относительного количества В-клеток при нормальном балансе Т-хелперы/Т-киллеры может расцениваться как определенная активация противовирусного иммунитета.

При внутритрубном инфицировании герпес-вирусами у большинства новорожденных отмечается иммуносупрессия, что при наличии клинических признаков инфицирования является теоретическим основанием для включения в комплекс терапии таких детей иммунокорригирующих препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fatahzadeh M, Schwartz RA. Human herpes simplex virus infections: epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management. *J Am Acad Dermatol.* 2007; 57(5):737-63.
2. Arvin AM, Whitley RJ, Gutierrez KM. Herpes Simplex Virus Infections. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant.* 6th ed. Philadelphia PA: Elsevier Saunders, 2006: 845-65.
3. Перинатальные инфекции: Практ. пособие. Ред. Сенчук АЯ, Дубоссарская ЗМ. М.: МИА, 2005: 318.
4. Corey L, Wald A. Maternal and neonatal herpes simplex virus infections. *N Engl J Med* 2009; 361:1376.
5. Сай С, Клименко Т. Активизация инфекций: виновата ли цивилизация? / Провизор. 2008; 2: 49-51.
6. Подзолкова Н.М., Скворцова М.Ю., Мельникова Н.И., Острейков И.Ф. Внутритрубная инфекция: современные проблемы. *Акушерство и гинекология.* 2009; 3: 27-32.
7. Gardella C, Brown Z. Prevention of neonatal herpes. *VJOG.* 2011; 118(2):187-92.
8. Stanberry LR. Neonatal herpes in premature infants: a special problem. *Pediatrics.* 2006; 118(6): 2543-4.
9. Пронькина Н.С., Булыгин Г.В., Камзалакова Н.И., Тихонова Ю.С. Характеристика параметров иммунного статуса у больных хронической герпетической инфекцией с формированием синдрома хронической усталости и иммунной дисфункции. *Фундаментальные исследования.* 2013; 5(1): 124-8.
10. Chew T., Taylor K.E., Mossman K.L. Innate and Adaptive Immune Responses to Herpes Simplex Virus. *Viruses.* 2009; 1(3): 979-1002.
11. Володин Н.Н., Дегтярева М.В. Иммунология перинатального периода: проблемы и перспективы. *Педиатрия.* 2001; 4: 4-8.
12. Боковой А.Г. Герпетические инфекции как ведущий фактор формирования вторичных иммунодефицитов в детском возрасте. *Эпидемиология и инфекц. болезни.* 2007; 6: 34-9.

РЕЗЮМЕ

ІМУНОЛОГІЧНИЙ СТАТУС НОВОНАРОДЖЕНИХ ВІД МАТЕРІВ З TORCH-ІНФЕКЦІЄЮ

А.І.Жданович, Т.В.Коломійченко, Р.І.Жданович

Державна установа «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології Національної академії медичних наук України», Київ, Україна

Герпесвірусну інфекцію останнім часом відносять до хвороб імунної системи, оскільки частота і тяжкість захворювання більш виражені у імунокомпрометованих осіб, а також у новонароджених у зв'язку з незрілістю їх імунної системи.

Мета дослідження - вивчити стан імунітету у новонароджених від матерів з TORCH-інфекцією. Матеріали і методи. Проведено дослідження у 140 новонароджених дітей, що народилися у жінок, інфікованих цитомегаловірусом (ЦМВ) і вірусом простого герпесу 2 типу (ВПГ 2). Контрольну групу склали 50 новонароджених від соматично здорових жінок. У сироватці периферичної крові методом імуноферментного аналізу визначали специфічні антивірусні антитіла класів G, M, для підтвердження внутрішньоутробного інфікування новонародженого застосовували метод ампліфікації ДНК за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Визначення лімфоцитарних субпопуляцій в крові проводили за методом двокольорового проточною цитофлуориметрії з використанням моноклональних антитіл (Becton Dickinson, США).

Результати дослідження. Імунологічні показники новонароджених з внутрішньоутробним інфікуванням характеризувалися зниженою відносною кількістю Т-лімфоцитів і Т-хелперів (CD3+4+). При цьому частка цитотоксичних Т-лімфоцитів (CD3+8+) підвищувалася, а також, відповідно знижувалося співвідношення CD3+CD4+/CD3+CD8+, що поряд зі зниженням частки В-клітин (CD19+) і природних кілерів може бути свідченням певної імуносупресії.

Висновок. Виявлена у більшості новонароджених при внутрішньоутробному інфікуванні герпесвірусами імуносупресія при наявності клінічних ознак інфікування є теоретичним обґрунтуванням включення в комплекс терапії імунокоригуючих препаратів.

Ключові слова: герпесвірусна інфекція, новонароджені, внутрішньоутробне інфікування, імунітет.

SUMMARY

IMMUNOLOGICAL STATUS OF NEWBORNS FROM MOTHERS WITH TORCH-INFECTION

A.A.Zhdanovich, T.V.Kolomiichenko, R.I.Zhdanovich

State institution «Institute of pediatrics, obstetrics and gynecology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kiyv, Ukraine

Herpes virus infection recently attributed to diseases of the immune system, as the frequency and severity of disease immunocompromised more pronounced in individuals and in newborns because of the immaturity of their immune systems.

Purpose of the study - to examine the state of immunity in newborns from mothers with TORCH-infection.

Materials and methods. A study of 140 newborns born to women infected with cytomegalovirus (CMV) and herpes simplex virus type 2 (HSV 2). The control group consisted of 50 newborns from somatically healthy women. Serum peripheral blood were determined by ELISA specific antiviral antibodies

of classes G, M, to confirm intrauterine infection of the newborn DNA amplification method used by polymerase chain reaction (PCR). Determination of lymphocyte subpopulations in blood was carried out by two-color flow cytometry using monoclonal antibodies (Becton Dickinson, USA).

Research results. Immunological indices of newborns with prenatal herpes infection characterized by decreasing the relative number of T-lymphocytes and T-helper cells (CD3+4+). The proportion of cytotoxic T lymphocytes (CD3+8+) increased, and accordingly reduced the ratio of CD3+CD4+/CD3+CD8+, that along with a reduction in the share of B-cells (CD19+) and natural killer cells may be an indication specific immunosuppression.

Conclusion. Revealed the majority of newborns infected with herpes viruses in the tube side immunosuppression in the presence of clinical signs of infection is a theoretical basis for inclusion in complex therapy immunocorrective drugs.

Key words: herpes virus infection, newborn, intra-uterine infection, immunity.

УДК 616.21+616.321]-022.7-039.35-085:[612.017.1:57.04

РОЛЬ СЕЛЕКТИВНОГО ДЕФІЦИТУ ІМУНОГЛОБУЛІНУ А ПРИ РЕКУРЕНТНИХ ІНФЕКЦІЯХ ВЕРХНІХ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ

*ЦАРИК В.В., КАЗМИРЧУК В.Є., ГРЕНИШЕНА М.М.,
НИКИФОРОВА Г.Ю., ДУКЕЛЬСЬКА Н.Є.*

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця
Інститут імунології та алергології

Вступ. На сьогодні інфекційні захворювання верхніх дихальних шляхів (ВДШ) є найбільш частотою патологією, як серед дорослого, так і серед дитячого населення. При порушеннях гуморального імунітету, які зустрічаються найчастіше серед причин рекурентного перебігу інфекцій ВДШ, може формуватися хронічний перебіг захворювання та розвиватися ускладнення. Часті епізоди респіраторних інфекцій у дітей зумовлені незрілістю слизових оболонок верхніх дихальних шляхів, тоді як у дорослого населення причинами хронізації та частих загострень можуть бути, як первинні, так і вторинні порушення гуморального імунітету. Як відомо, імуноглобуліни багатьох класів, зокрема IgE, секретуються на слизові оболонки ВДШ та являються першою лінією захисту від поширених патогенів. При тривалому запальному процесі на слизовій руйнуються епітеліальні клітини, що призводить до вторинних порушень місцевого імунітету та зниження продукції секреторного імуноглобуліну А. Серед первинних імунодефіцитів, які клінічно проявляються рекурентними інфекціями ВДШ найчастіше зустрічаються: селективний дефіцит імуноглобуліну А, дефіцит імуноглобуліну Е та

дефіцит специфічних антитіл до певних інфекційних агентів.

Селективний дефіцит імуноглобуліну А

IgA є найбільш важливим фактором імунного захисту в організмі людини і виконує дуже спеціалізовану роль, яка включає: імунітет слизових оболонок, розвиток імунної толерантності та захист від інфекції. IgA є ключовим імуноглобуліном дихального і шлунково-кишкового тракту, який забезпечує найбільш близький контакт між навколишнім середовищем і організмом. Референтні значення нормального рівня сироваткового IgA базуються на багатьох дослідженнях. За міжнародним консенсусом, тотальний селективний дефіцит IgA визначається його сироватковою концентрацією на рівні 0,07 г/л у віці старше чотирьох років за відсутності дефіциту IgG та IgM [9]. Проте, частіше зустрічається парціальний дефіцит IgA, для якого характерно зниження на два сигмальні відхилення від нижньої границі норми [7].

Епідеміологія дефіциту IgA показує цікаві розбіжності між географічними регіонами. Захворюваність серед населення Кавказу значно вища, ніж в інших країнах Європи і Азії. Селек-