

© Ю.Ю. Нікуліна*, О.С. Воронкова, О.А. Сірокваша, А.І. Вінніков

УДК 616.9

Ю.Ю. Нікуліна*, О.С. Воронкова, О.А. Сірокваша, А.І. Вінніков

ВІРУСНІ ІНФЕКЦІЇ ТА СТАН МІКРОФЛОРИ РЕПРОДУКТИВНОГО ТРАКТУ У ЖІНОК З УСКЛАДНЕНИМ ПЕРЕБІГОМ ВАГІТНОСТІ

Дніпропетровський національний університет ім. Олеса Гончара (м. Дніпропетровськ)

*** Імуногенетичний відділ клініко-діагностичної лабораторії**

Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечникова (м. Дніпропетровськ)

Робота є фрагментом комплексної НДР ВДНЗ України «Дніпропетровський національний університет» «Теоретичні та практичні основи життєдіяльності мікробіоценозів форм взаємовідносин з тваринами та рослинами », номер держ.реєстрації 0112U000192.

Вступ. Серед різних інфекційних захворювань, при яких можуть спостерігатися порушення перебігу вагітності, значне місце належить вірусним інфекціям. Плацента людини практично проникна для всіх вивчених в даний час вірусів, проте далеко не завжди вірусне захворювання приводить до ураження плоду. Це залежить в першу чергу від характеру самого інфекційного збудника, а також від його здатності викликати патологічні зміни розвитку ембріону і плоду.

Вірусні ураження плоду мають різноманітний характер. На ранніх стадіях внутрішньоутробного розвитку віруси можуть викликати загибель ембріона, при цьому вагітність закінчується спонтанним абортom. Якщо інфікування ембріона відбулося в перші сім тижнів вагітності, то можливе виникнення різних вад розвитку. У таких випадках дитина народжується зазвичай з множинними аномаліями розвитку. Нарешті, проникнення вірусів в плід на пізніх стадіях розвитку може приводити до розвитку інфекційного захворювання, яке виявляється вже у неонатальний період [4, 5].

Разом з цим одним з можливих наслідків для плоду при вірусних захворюваннях матері може бути виникнення імунологічної толерантності, тобто такого патологічного стану, коли організм, інфікований вірусом у внутрішньоутробному періоді розвитку, втрачає здібність до активної продукції антитіл при повторному зараженні тим же вірусом [5, 10]. При вірусних захворюваннях вагітних ураження плоду можуть зустрічатися і за відсутності прямого інфікування. У таких випадках порушення розвитку плоду можуть бути обумовлені непрямым шляхом: висока лихоманка, виражена інтоксикація, порушення обміну речовин в організмі матері та ін.. При вірусній інфекції ступінь ураження плоду не завжди відповідає тяжкості захворювання матері. Плід людини найбільш чутливий до вірусів на ранніх стадіях внутрішньоутробного розвитку, коли відбуваються утворення найважливіших органів і васкуляризація плаценти (період органогенезу і плацентазії). Володіючи особливою спорідненістю до клітин, що

мають високий рівень обмінних процесів, віруси особливо часто вражають ембріональні тканини, що знаходяться у момент інфікування в активній стадії свого формування [10].

Метою дослідження було оцінити розповсюдженість різних груп вірусів серед пацієнтів відділення патології вагітних Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечникова та визначити характерні зміни імунологічного статусу за наявності найбільш розповсюджених вірусних інфекцій серед вагітних жінок.

Об'єкт і методи дослідження. Обстеження 108 жінок з ускладненим перебігом вагітності було проведено сумісно з медичним персоналом відділення патології вагітних Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечникова.

Виконано дослідження специфічних антитіл до цитомегаловірусу імуноглобулінів класу М та G і визначення їх титру [8]. Цей метод був використаний як для діагностики цитомегаловірусної інфекції (ЦМВІ), так і для проведення диференційного діагнозу між первинною і хронічною ЦМВІ [8, 9].

Молекулярно-біологічний метод діагностики вірусних інфекцій – полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР), яка має високу чутливість і специфічність дала можливість виявити ДНК ЦМВ в мазаннях. Використання ПЛР дозволило контролювати перебіг ЦМВІ у вагітних. Для ЦМВІ діагностичне значення мало наростання титру антитіл у 4 рази і більше.

Для експрес-діагностики вірусу простого герпеса (ВПГ) I та II типів та вірусу краснухи (Rubella virus) використовували імуноферментний аналіз (ІФА). Лабораторна діагностика гепатитів В (ВГВ) та С (ВГС) спрямована на виявлення анти-ВГВ та -ВГС IgM і IgG за допомогою імуноферментного аналізу [1,7].

Для кількісного аналізу застосовували два варіанти виконання тесту. Першим етапом було зв'язування моноспецифічних антитіл на поверхні твердої фази. Далі відбувалось проведення реакції конкурентного або непрямого типу. В першому варіанті антиген, який мітився ферментом, конкурував з досліджуванним неміченим антигеном за антитіла, які утримувалися на твердій фазі: ферментна активність була обернено пропорційною кількості антигену в досліджуваному зразку. В другому варіанті конкуренція була відсутня: антигени досліджуваної біологічної рідини реагували з іммобілізованими на

твердій фазі антитілами, після чого надлишок суміші видалявся і в реакцію вводили мічені ферментом антитіла, які зв'язувалися із вже іммобілізованим антигеном. У цьому разі ферментативна активність була в прямо пропорційній залежності від кількості антигену в досліджуваному біологічному матеріалі. В якості ферментної мітки використовували пероксидазу. Під дією ферменту хромоген перетворювався на забарвлений продукт, вміст якого визначався за оптичною густиною розчину [3, 6].

Характер імунного статусу пацієнток вивчався на місцевому та загальному рівнях. У вагітних визначалася кількість лімфоцитів, які експресували на своїй поверхні CD3-, CD4-, CD8-, CD16- та CD22-рецептори, концентрацію загальних IgG, IgM, IgA та специфічних IgG. Результати обробляли статистично з використанням t-критерія Стьюдента [2].

Результати досліджень та їх обговорення. В ході дослідження біологічного матеріалу від 108 вагітних жінок з характерними симптомами вірусних інфекцій було встановлено присутність наступних видів вірусів: цитомегаловірусу, вірусу краснухи, вірусів простого герпесу I та II типів, вірусів гепатиту В та С, групи вірусів, які викликають гострі респіраторні інфекції (**табл. 1**).

Таблиця 1

Віруси, які було виділено у жінок з патологією вагітності

Вірус	Кількість випадків	
	Абсолютна кількість	%
Цитомегаловірус	30	27,8
ГРВІ	24	22,2
Вірус краснухи	21	19,4
Вірус простого герпесу I	12	11,1
Вірус простого герпесу II	6	5,55
Вірус гепатиту С	5	4,6
Вірус гепатиту В	10	9,35
Всього	108	100

На першому місці за кількістю випадків була цитомегаловірусна інфекція – 27,8%. ЦМВ здатен викликати персистентну і латентну інфекцію і реактивуватися в умовах ослаблення імунітету. Інфікування плоду викликає порушення функціональних механізмів диференціювання клітин і тканин органів. Частота розповсюдження ГРВІ серед жінок відділення патології вагітності склала 22,2%.

Віруси гепатиту В та С виявлялися у 9,35 та 4,6% випадків відповідно.

В 21 випадку було визначено позитивну відповідь у матеріалі на наявність вірусу краснухи. В період вагітності зараження вірусом краснухи є одним з найбільш небезпечних. Вірус, що знаходиться в крові матері, уражає тканини зародка, викликаючи в перші три місяці вагітності хронічне інфікування

плоду, що порушує його внутрішньоутробний розвиток і часто стає причиною спонтанного абортів. Частота і ступінь ураження плоду в значній мірі визначається терміном вагітності в момент зараження. Чим менше термін вагітності, при якому жінка захворіла краснухою, тим частіше і важче розвиваються вади розвитку у плоду. Ураження плоду вірусом краснухи різноманітні, причому ступінь ураження не залежить від ступеня важкості захворювання вагітної. Ознаки природженої краснухи у новонародженого: ураження очей, вади серця, глухота, ураження головного мозку, вади розвитку скелету, печінки, селезінки та сечостатевої системи.

ВПГ I та ВПГ II виявлялися серед вагітних у 11,1 та 5,55 % випадків відповідно. Вони характеризувалися ефективним руйнуванням уражених клітин, відносно коротким репродуктивним циклом і здатністю перебувати в латентній формі в гангліях нервової системи. Обидва збудники викликають ураження назолабіальної при ВПГ I інфекції та генітальної локалізації при ВПГ II інфекції.

Для ідентифікації краснухи використовувався метод ІФА на виявлення специфічних антитіл класів IgM та IgG. Антитіла класу IgM з'являлися в гострий період інфекції. Наявність специфічних антитіл класу IgM свідчила про зараження краснухою, що сталося на протязі 2 місяців. Антитіла класу IgG з'являлися в період реконвалесценції і у перехворілих. Визначення антитіл класу IgG використовувалося для оцінки напруженості імунітету та виявлення інфекції в анамнезі. При проведенні ІФА у 15 вагітних були виявлені антитіла класу IgG до Rubella virus при цьому їх концентрація становила $23,25 \pm 2,05$ МО/мл (міжнародні одиниці на мл). Для інтерпретації результатів дослідження наявності специфічних антитіл на краснуху методом ІФА використовувалися позитивні і негативні пороги тест-системи, на якій проводили дослідження: до 10 МО/мл – негативний результат; 10-12 МО/мл – сумнівний; більше 12 МО/мл – позитивний. У 6 вагітних були виявлені антитіла класу IgM до Rubella virus при цьому їх концентрація становила $1,1 \pm 0,1$ МО/мл.

Значення IgG до ЦМВ у переважній кількості вагітних з цитомегаловірусною інфекцією становило $15,9 \pm 1,3$ МО/мл. Значення IgG до ВПГ I мало наступне значення $13,3 \pm 1,04$ МО/мл. При активній герпесвірусній інфекції діагностичною була наявність IgM і чотирикратне збільшення кількості IgG в парних сироватках крові, які отримували від вагітних з інтервалом у 10-12 днів.

Проведення вивчення показників клітинного і гуморального імунітету проводили для випадків ЦМВІ та інфекцій, викликаних ВГВ та ВГС (**табл. 2**).

Як видно з **таблиці 2**, при гепатиті С та В спостерігалось значне зниження кількості Т-лімфоцитів (CD3) порівняно із нормою, що було першою реакцією імунної системи на проникнення в організм вірусу і початку боротьби з ним, тому що саме Т-лімфоцити найбільш швидко із усіх компетентних клітин реагують на антиген. Також відмічалось значне зниження

Клітинні та гуморальні показники імунітету при гепатиті С, гепатиті В та цитомегаловірусній інфекції у вагітних жінок

Імунологічні показники	Норма, %	Віруси, які було виявлено у матеріалі		
		ЦМВ	Гепатит В	Гепатит С
Клітинний імунітет (відносний вміст лімфоцитів в%)				
СД3 (Т-лімфоцити)	67-76	52,0±3,01	57,2±3,25	62,0±3,75
СД4 (Т-хелпери)	33-46	30,0±2,33	28,7±2,15	41,3±3,80
СД8 (Т-супресори)	18-28	16,0±0,84	29,0±1,63	22,1±1,40
СД16 (NK-кілери)	12-23	9,4±0,39	8,9±0,34	16,0±0,67
СД22 (В-лімфоцити)	17-23	8,8±0,49	8,4±0,47	6,0±0,38
Рівень імуноглобулінів, г/л				
Ig A	1,9-4,2	2,23±0,16	2,75±0,17	0,77±0,05
Ig M	0,61-1,42	0,54±0,08	0,8±0,11	1,12±0,13
Ig G	6,0-14,0	12,0±0,60	11,5±0,50	12,2±0,62
Циркуючі імунні комплекси (ЦІК), ум.од.	До 100	120±1,48	105,0±1,30	225,0±2,50

кількості CD22 (В-лімфоцитів), що свідчило про розвиток імунодефіциту. Підвищення ЦІК при гепатиті В до 105,0±1,30 ум. од. може свідчити на користь перебігу аутоімунного процесу. А збільшення імунних комплексів у 2 рази при гепатиті С до 225,0±2,5 ум. од. свідчило про зниження фільтраційної та детоксикаційної функції, а також про наявність вогнища хронічного запалення у печінці. Додатково при гепатиті В спостерігалось зниження частки NK-клітин (CD16), що свідчило про недостатність клітинного імунітету.

За наявності цитомегаловірусної інфекції у вагітних спостерігалось зниження всіх імунологічних показників, що свідчило про виснаження, як гуморальної так і клітинної ланки імунної системи вагітних.

Дослідження клітинних імунологічних показників при краснусі, ВПГ I та II, ГРВІ не виявило значних відхилень від нормальних показників, тому в даному випадку найбільш достовірним діагностичним методом є проведення ІФА з метою виявлення специфічних імуноглобулінів до цих вірусних інфекцій.

Висновки.

1. У біологічному матеріалі від 108 вагітних встановлено наявність 7 видів вірусів: цитомегаловірусу, вірусу краснухи, вірусів простого герпесу I та II типів, вірусів гепатиту В та С та групи вірусів, які викликають гострі респіраторні вірусні інфекції.

2. З найбільшою частотою виявлявся цитомегаловірус (27,8%), наявність якого у вагітної співпадала зі значним зниженням імунологічних показників крові вагітних.

3. Була виявлена чітка закономірність між наявністю у вагітних гепатиту С та значним підвищенням концентрації циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові на тлі зниження відносної кількості В-лімфоцитів.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати дають підстави вважати, що вірусні інфекції у вагітних спричиняють характерні зміни їх імунного статусу. Ці дані мають бути в подальшому використані для своєчасного виявлення вірусних інфекцій у жінок з ускладненим перебігом вагітності.

Список літератури

1. Борисов Л.Б. Руководство к лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии, иммунологии / Л.Б.Борисов. – М.: Медицина, 2003. – 232 с.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия / Лакин Г.Ф. – М: Высшая школа, 1980. – 293с.
3. Практична мікробіологія / С.Є. Климнюк, І.О. Ситник, М.С. Творко [та ін.] – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 352 с.
4. Поздеев О.К. Медицинская микробиология / О.К.Поздеев, В.И. Покровский. – М.: ГЕОТАР-МЕД, 2001. – 656 с.
5. Сергеев В.А. Вирусы и вирусные вакцины / В.А. Сергеев, Е.А. Непоклонов, Т.И. Алипер. – М.: Библионика, 2007. – 524 с.
6. Шмарак І.О. Основи вірусології / І.О. Шмарак, М.М. Марченко, М.Я. Співак. – Чернівці: Чернівецький нац. ун-т, 2011. – 320 с.
7. Anvizino E. Herpes simplex virus infection in pregnancy and in neonate: status of art of epidemiology, diagnosis, therapy and prevention / E. Anvizino, D. Fioriti, A. Bellizzi // *Virology journal*. – 2009. – Vol.10, №6. – P. 17-22.
8. Britt W.J. Human cytomegalovirus infection during pregnancy / W.J. Britt // *Herpes*. – 2006. – № 3. – P. 37-43.
9. Jones C.A. Predicting the outcome of symptomatic congenital cytomegalovirus infection / C.A. Jones, D. Isaacs // *Pediatr Child Health*. – 2005. – №4. – P.70-71.
10. Viral infections during pregnancy: failure of mother to infant transmission Zuckerman M.A., Aitken C, Whitby K. [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2007. – Vol.52. – P. 161-168.

УДК 616.9

ВІРУСНІ ІНФЕКЦІЇ ТА СТАН МІКРОФЛОРИ РЕПРОДУКТИВНОГО ТРАКТУ У ЖІНОК З УСКЛАДНЕНИМ ПЕРЕБІГОМ ВАГІТНОСТІ

Нікуліна Ю.Ю., Воронкова О.С., Сірокваша О.А., Вінников А.І.

Резюме. Робота присвячена вивченню вірусних інфекцій у жінок з ускладненим перебігом вагітності. Визначено частоту виникнення вірусних інфекцій і особливості зміни показників клітинного та гуморального імунитетів у 108 пацієнток відділення патології вагітних Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І.І. Мечникова.

Ключові слова: вірусні інфекції, ускладнений перебіг вагітності.

УДК 616.9

ВИРУСНЫЕ ИНФЕКЦИИ И СОСТОЯНИЕ МИКРОФЛОРЫ РЕПРОДУКТИВНОГО ТРАКТА У ЖЕНЩИН С ОСЛОЖНЕННЫМ ТЕЧЕНИЕМ БЕРЕМЕННОСТИ

Никулина Ю.Ю., Воронкова О.С., Сирокваша О.А., Винников А.И.

Резюме. Работа посвящена изучению вирусных инфекций у женщин с осложненным течением беременности. Определена частота возникновения вирусных инфекций и особенности изменения показателей клеточного и гуморального иммунитета у 108 пациенток отделения патологии беременных Днепропетровской областной клинической больницы им. И.И. Мечникова.

Ключевые слова: вирусные инфекции, осложненное течение беременности.

UDC 616.9

Viral Infections And Microflora Of Women's Reproductive Tract With The Complicated Flow Of Pregnancy

Nikulina Y.Y., Voronkova O.S., Sirokvascha O.A., Vinnikov A.I.

Summary. This is a study of viral infections in women with complicated pregnancy. The frequency of viral infections, and especially the changes of cellular and humoral immunity from 108 patients of the Department of pregnancy pathologic I. I. Mechnikov Dnipropetrovsk Region Clinical Hospital.

Key words: viral infections, complicated pregnancy.

Стаття надійшла 17.04.2012 р.

Рецензент – проф. Добровольська Л.М.