© Л.В. Кравченко, 2008

Л.В. Кравченко

КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ ТЕЧЕНИЯ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ

ФГУ «Ростовский научно-исследовательский институт акушерства
и педиатрии Федерального агентства по высокотехнологичной
медицинской помощи», г. Ростов-на-Дону, РФ

Проведено клинико-лабораторное обследование 62 детей первого года жизни с герпесвирусной инфекцией (ГВИ). У 32 детей (1-я группа) имело место острое течение ГВИ, у 19 детей (2-я группа) отмечался затяжной характер течения заболевания, у 11 (3-я группа) — хроническое течение, кон-

трольную группу составили 12 доношенных новорожденных без проявлений ГВИ. Проведена сравнительная оценка относительного и абсолютного содержания лимфоцитов с рецепторами CD3+, клеток с маркерами активации CD3+CD69+, CD3+CD71+ и индукции апоптоза CD3+CD95+ в периферической крови у детей в возрасте 1 и 3 месяцев с различными вариантами течения ГВИ. Острое и затяжное течение ГВИ характеризовалось достоверным повышением экспрессии CD3+CD95+ на первом месяце жизни. При хроническом течении ГВИ отмечалось более высокое содержание относительного количества числа активированных клеток с маркерами активации CD3+CD69+, снижение клеток, экспрессирующих на своей мембране CD3+CD71+ и CD3+CD95+, что носило неблагоприятный прогностический характер.

Clinical and laboratory examination was performed in 62 infants in first year of life with herpes-virus infection (HVI). 32 patients had acute HVI (1st group), 19 patients had protracted HVI (2nd group) and 11 — chronicVI (3rd group). 11 full-term newborn without signs of HVI were examined as control group. Authors performed comparative study of relative and absolute number of CD3+ cells with markers of activation CD3+CD69+, CD3+CD71+ and with apoptosis markers CD3+CD95+ in peripheral blood of infants aged 1–3 months old with different HVI variants. Acute and protracted HVI was characterized by significantly increased CD3+CD95+ expression in first month of life. Chronic HVI was characterized by more high relative number of activated cells with activation markers CD3+CD95+, by decreased number of cells expressed CD3+CD71+ and CD3+CD95+ and it was unfavorable prognostic sign.

Герпесовирусной инфекции (ГВИ) принадлежит ведущее место среди основных причин неонатальной заболеваемости и смертности.

ГВИ, обусловленные вирусами герпеса, цитомегалии, Эпштейна-Барра, являются частой причиной заболеваний урогенитального тракта у женщин и особенно опасны во время беременности, так как могут вызывать тяжелый инфекционный процесс, приводящий к инвалидности или смертности новорожденных [1–3].

ГВИ у детей раннего возраста характеризуется полиморфностью клинической симптоматики, что делает актуальной проблему наиболее ранней верификации возбудителя. Следует отметить, что в связи с высоким риском развития отсроченных осложнений, свойственных ГВИ, частым поражением нервной системы при этой патологии лечение детей должно проводиться даже при выделении латентных возбудителей с целью предотвращения инвалидизации [4–6].

Выраженный клинический полиморфизм ГВИ у детей первых месяцев жизни связан с особенностями иммунного ответа и влиянием сопутствующей перинатальной патологии.

В основе патогенетических механизмов развития ГВИ лежат изменения основных показателей клеточного и гуморального иммунитета [7–11]. Одним из крупнейших достижений последних лет явилось обнаружение целостной системы, обеспечивающей экстренное удаление поврежденных или опасных для организма клеток. Гомеостаз у млекопитающих контролируется не только клеточной пролиферацией и дифференцировкой, но также с помощью клеточной смерти. Одним из центральных аспектов иммунологии является вопрос о том, как завершается однажды начавшийся иммунный ответ. Естественное затухание Т-клеточного ответа происходит при снижении уровня активирующего стимула, и механизмом его служит запрограммированная гибель клеток (апоптоз). На определенном этапе иммунного ответа активация Т-клеток антигеном уже не вызывает их пролиферацию и индуцирует цепь процессов, приводящих к гибели клеток по механизму апоптоза.

Апоптоз — самоубийство клетки, поскольку он осуществляется вследствие срабатывания собственных внутренних механизмов клеток. Апоптоз является фундаментальным биологическим процессом, необходимым для удаления старых и инфицированных клеток, особенно это касается нервной и иммунной систем. Он приводит к элиминации реактивных клеток без освобождения потенциально токсичных обломков клеток [12].

Специализированный рецептор для индукции апоптоза (CD95) принадлежит к суперсемейству фактора некроза опухоли (ФНО). Связывание рецептора для индукции апоптоза CD95 и специфического лиганда (FasL) индуцирует апоптоз. Взаимодействие рецептора CD95 с CD95L мобилизует находящуюся в неактивной форме каспазу-8 и расщепляет ее с образованием активной формы, что приводит в итоге к расщеплению ядерной ДНК, фрагментации ядра, гибели клетки и удалению лишних CD95+ клеток [13, 14].

Цель исследования — провести сравнительную оценку содержания Т-лимфоцитов (CD3+) и клеток с маркерами активации (CD3+CD95+, CD3+CD69+, CD3+CD71+) в сыворотке крови у детей первого года жизни с ГВИ в зависимости от варианта течения заболевания.

Материалы и методы исследования

Проведено клинико-иммунологическое обследование 62 детей первого года жизни с ГВИ, контрольную группу составили 12 доношенных детей без проявлений ГВИ.

В зависимости от течения заболевания все обследованные проспективно были разделены на 3 группы.

1-ю группу составили 32 ребенка с острым течением ГВИ (клинические проявления в течение 3 месяцев), во 2-ю вошли 19 детей с затяжным течением заболевания (клинические проявления до 6 месяцев), 3-ю группу составили 11 детей с хроническим течением заболевания (клинические проявления более 6 месяцев).

Диагностику ГВИ осуществляли путем параллельного исследования крови и мочи методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и определения специфических антител IgM и G методом иммуноферментного анализа ПЦР. Клинический осмотр детей осуществляли в течение первого года жизни в 1, 3, 6, 9 и 12 месяцев. Типирование лимфоцитов с рецепторами (CD3+), клеток с маркерами активации CD3+CD95+, CD3+CD69+, CD3+CD71+ проводили с помощью моноклональных антител фирмы «IMMUNOTECH» методом проточной цитофлуометрии (проточный цитофлуориметр аппарат COULTEN EPICS XL).

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ «STATISTICA-6». В связи с тем, что распределение данных не подчинялось нормальному закону, для оценки статистической значимости различий между сравниваемыми группами использовали непараметрический критерий Вилкоксона.

Для представления результатов использованы медиана и интерквартильный размах. Различия сравниваемых величин признавали статистически достоверными при уровне значимости $p<0,05$. Пересечение интерквартильных интервалов не говорит об отсутствии достоверных различий сравниваемых групп [15]. Гистограмма аппроксимируется линиями тренда.

Результаты и их обсуждение

Изучение этиологической структуры ГВИ у наблюдаемых детей свидетельствовало о том, что число детей с цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВИ) составило 41 (68%), с герпетической инфекцией — 8 (13%) пациентов и с вирусной инфекцией Эпштейна–Барра — 11 (19%).

Таблица 1

Динамика содержания CD3CD95 у детей с ГВИ при различных вариантах течения заболевания

Группы обследованных	CD95			
	1 мес		3 мес	
	%	10^9/л	%	10^9/л
Острое течение	2,90 (1,63–9,65) [1,3]	0,13 (0,04–0,30) [3]	2,75 (1,55–7,53)	0,10 (0,05–0,31) [1]
Затяжное течение	3,25 (2,60–4,30) [2]	0,17 (0,10–0,21) [2]	3,70 (2,95–5,95)	0,19 (0,15–0,26) [2]
Хроническое течение	1,40 (0,76–1,55) [3]	0,08 (0,05–0,39) [3]	2,80 (1,83–8,10)	0,18 (0,08–0,40)
Контрольная группа	2,4 (1,83–3,4)	0,085 (0,07–0,12)	—	—

Здесь и в табл. 2 и 3: результаты представлены медианой значений (в скобках — значения 1–3-го квартиля); достоверность различия: [1] при сравнении показателей у детей с острым и хроническим течением ГВИ; [2] при сравнении показателей у детей с затяжным и хроническим течением ГВИ; [3] при сравнении показателей с контрольной группой.

Таблица 2

Динамика содержания CD3CD69 у детей с ГВИ при различных вариантах течения заболевания

Группы обследованных	CD69			
	1 мес		3 мес	
	%	10^9/л	%	10^9/л
Острое течение	0,75(0,47–1,20)[3]	0,03 (0,01–0,05)[3]	1,00 (0,60–1,40)	0,04 (0,02–0,07)
Затяжное течение	1,00 (0,43–1,72)[2, 3]	0,03 (0,001–0,11)[2, 3]	1,00 (0,20–1,85)	0,05 (0,01–0,07)
Хроническое течение	1,40 (0,75–2,35)[3]	0,03 (0,02–0,13)[3]	0,65 (0,23–2,33)	0,03 (0,02–0,09)
Контрольная группа	2,05 (1,28–2,88)	0,09 (0,07–0,14)	—	—

Таблица 3

Динамика содержания CD3CD71 у детей с ГВИ при различных вариантах течения заболевания

Группы осбледованных	CD71			
	1 мес		3 мес	
	%	10^9/л	%	10^9/л
Острое течение	1,00 (0,55–1,75)[1, 3]	0,03 (0,01–0,06)[1, 3]	0,50 (0,10–1,65)	0,03 (0,01–0,07)
Затяжное течение	0,50 (0,17–1,35)[2, 3]	0,01 (0,01–0,06)[2, 3]	0,85 (0,23–1,60)	0,06 (0,02–0,07)
Хроническое течение	0,14 (0,10–0,17)[3]	0,01 (0,004–0,01)	0,35 (0,17–1,43)[3]	0,03 (0,01–0,04)
Контрольная группа	1,85 (1,33–2,35)	0,07 (0,05–0,09)	—	—

Анализ результатов ДНК-диагностики герпесвирусов, определяемых методом ПЦР у детей во всех группах, показал, что в группе с острым течением ГВИ у 10 (31,2%) детей в лейкоцитах крови определялась ДНК герпесвирусов, что сочеталось с обнаружением у 28 (87,4%) ДНК герпесвирусов в моче. У 6 (18,7%) детей ДНК герпесвирусов определялась одновременно и в крови, и в моче. У детей с затяжным течением заболевания в крови в одном (5,2%) случае определяли ДНК герпесвируса, в 18 (94,8%) случаях ДНК герпесвирусов обнаруживалась только в моче. При хроническом течении ГВИ в возрасте 12 месяцев ДНК герпесвирусов определи в лейкоцитах крови у 3 (27,2%) детей и в моче — у 8 (72,8%) детей.

Специфические антитела IgM при проведении ИФА не определялись во всех группах. Существенное увеличение титра антител IgG имело место у 30 детей (94%) 1-й группы (медиана 71 у.е., интерквартильный размах 20–108,5 у.е.) и у 12 (63,2%) — 2-й группы (медиана 80 у.е., интерквартильный размах 24,3–100,0 у.е.). Следует отметить, что уровень специфических антител IgG в группе с хроническим течением заболевания в сроке 12 месяцев достоверно не отличался от показателей контрольной группы (медиана 21,5 у.е.; интерквартильный размах 5,5–40,0 у.е.). У 12 больных уровень специфических IgG антител был выше, чем у их матерей.

Одномоментное выявление противогерпетических IgG и положительная ПЦР служили веским диагностическим аргументом, что согласуется с данными других авторов [6].

Анализ проведенных исследований показал, что все дети в исследуемых группах родились от женщин с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом, от беременностей высокого риска (угроза прерывания, гестоз, анемия, эпизоды острых инфекций и обострений хронических заболеваний, хронический аднексит, эндометрит, сальпингоофарит).

При оценке клинических данных у детей во всех группах в первые 3 месяца жизни выявлена группа признаков, определявшихся наиболее часто: одышка (42,3%), конъюгационная желтуха (38,5%), пиодермия (12,1%), пневмония (25,8%), увеличение печени (36,7%), сосудистая дезадаптация (78,3%), конъюнктивит (13,4%), гипотрофия (25,7%). При анализе неврологического статуса показано, что наиболее часто отмечались следующие симптомы и синдромы: судороги (12,8%), повышенная возбудимость (44,2%), мышечная гипотония (41,4%), гипертонус мышц (51,2%), гипертезионно-гидроцефальный синдром (65,7%).

При остром течении заболевания вышеуказанные симптомы исчезали через 3 месяца от начала заболевания. При хроническом течении к возрасту одного года сохранялись нарушения мышечного тонуса в виде мышечной гипотонии (21%), гепатомегалия (9,4%), отмечалась высокая (более 5 случаев в год) заболеваемость ОРВИ (29,9%), задержка психомоторного развития (28%).

В настоящее время рассмотрение патогенеза ГВИ невозможно без комплексной оценки гуморального и клеточно-опосредованного иммунитета, играющего регулирующую роль на всех этапах иммунного ответа [10, 11].

При определении уровня субпопуляций Т-лимфоцитов CD3+ уже на 1-м месяце жизни наблюдались достоверные различия между группами. Так, при хроническом течении заболевания отмечалось достоверное снижение относительной доли Т-лимфоцитов CD3+ по сравнению с острым и затяжным течением ГВИ, при этом в абсолютных значениях различий не отмечалось. Обращает на себя внимание, что в возрасте 3 месяцев достоверные различия как в относительных, так и в абсолютных показателях CD3+ отсутствовали.

Нами проведено изучение роли экспрессии CD3+CD95+ (табл. 1) в зависимости от варианта течения заболевания. Анализ процессов активации у обследованных нами больных выявил, что на лимфоцитах больных с острым течением ГВИ отмечено достоверное повышение экспрессии CD3+CD95+ по сравнению с хроническим течением на 1-м месяце жизни, свидетельствующее о нарастании готовности лимфоцитов к апоптозу. Отмеченное повышение клеток, экспрессирующих на своей мембране CD3+CD95+, документировано только по относительным критериям (см. рисунок). При обследовании в возрасте 1-го месяца отмечено, что и абсолютное, и относительное количество CD3+CD95+ клеток достоверно повышалось при затяжном течении заболевания по сравнению с хроническим течением ГВИ. При исследовании в возрасте 3 месяцев достоверных различий относительных показателей экспрессии активационных маркеров CD3+CD95+ не обнаружено.

Анализ процессов активации у больных с ГВИ выявил снижение активности процессов ранней активации иммунокомпетентных клеток как по

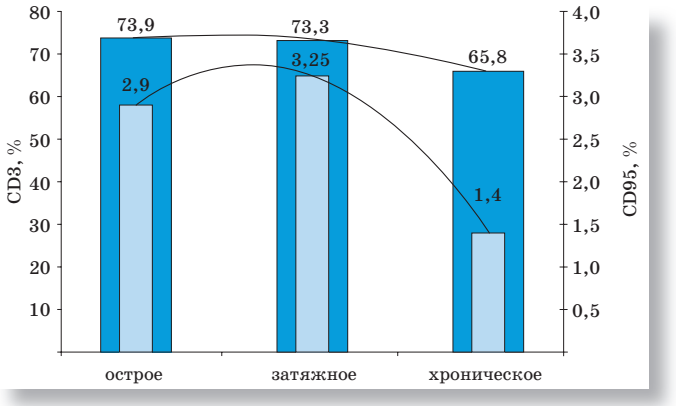

Рисунок. Уровень CD95 в зависимости от варианта течения заболевания.
■ CD3, ■ CD95.

относительным, так и по абсолютным показателям в отличие от контрольной группы. Выявлено достоверно более высокое содержание относительного количества активированных клеток с маркерами активации CD3+CD69+ у детей с хроническим течением заболевания по сравнению с острым течением ГВИ (табл. 2).

При этом следует отметить также снижение процессов активации, документируемое уменьшением относительного количества клеток, экспрессирующих CD3+CD71+ в группах детей с хроническим течением ГВИ (табл. 3).

Эти изменения отражали реакцию иммунной системы на инфекцию и имели четкую зависимость от вида возбудителя.

Таким образом, вовлечение иммунной системы в создание противоинфекционной защиты у детей с ГВИ выражается в депрессии Т-клеточного звена иммунитета, проявляющейся снижением относительного числа CD3+ лимфоцитов.

Нами показана значимость исследования экспрессии CD3+CD95+ у больных с ГВИ, позволяющая составить представление о роли программированной клеточной смерти в патогенезе данного заболевания. Индуцированный апоптоз при ГВИ может служить как защитный механизм элиминации вирус-инфицированных клеток. В свете полученных данных становится понятным, что в начале заболевания появление CD3+CD95+ на Т-лимфоцитах носит защитный характер, препятствующий прогрессированию заболевания. Об этом свидетельствует меньший процент осложнений к возрасту одного года у детей с ГВИ. Как уже упоминалось выше, у детей из группы с хроническим течением заболевания достоверно выше, чем у детей с острым течением ГВИ был уровень инфекционной заболеваемости на 1-м году жизни, рассматриваемой нами как характерная особенность перенесенной ГВИ. Хотя на данный момент достоверно не известен механизм, посредством которого больные из группы детей с повышенной экспрессией CD3+CD95+ и из групп пациентов, у которых отмечался сниженный уровень CD3+CD95+, различаются по уровню инфекционной заболеваемости на первом году жизни (частые ОРВИ), полученные результаты четко показывают, что экспрессия CD3+CD95+ имеет немаловажное значение в прогнозе развития инфекционной заболеваемости.

Экспрессия рецептора CD3+CD95+ является прогностически благоприятным фактором, так как дети, имевшие меньшую частоту эпизодов ОРВИ на первом году жизни, экспрессировали этот антиген.

Наиболее интересные данные, позволяющие исключительно точно судить о предполагаемом варианте течения ГВИ, мы получили при изучении показателей маркеров активации иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих на своей мембране CD3+CD69+, CD3+CD71+, и лимфоцитов, экспрессирующих CD3+CD95+ и свидетельствующих о нарастании готовности лимфоцитов к апоптозу. Выявлено, что в случае хронического течения заболевания уже на первом месяце заболевания у детей отмечалось достоверное увеличение содержания лимфоцитов, экспрессирующих CD69+, и снижение клеток, экспрессирующих на своей мембране CD3+CD71+ и CD3+CD95+.

Выводы

1. У детей с ГВИ отдаленный прогноз зависел от варианта течения заболевания. При хроническом течении ГВИ, в отличие от острого и затяжного, к возрасту одного года сохранялись нарушения мышечного тонуса в виде мышечной гипотонии (21%), гепатомегалия (9,4%), отмечалась высокая (более 5 случаев в год) заболеваемость ОРВИ (29,9%), задержка психомоторного развития (28%).

2. Реакция иммунной системы при ГВИ у детей первых 3 месяцев жизни сопровождалась изменениями клеточного звена иммунитета. На лимфоцитах больных с острым и затяжным течением ГВИ отмечено достоверное повышение экспрессии CD3+CD95+ на первом месяце жизни, свидетельствующее о нарастании готовности лимфоцитов к апоптозу.

3. Хроническое течение ГВИ характеризуется достоверным снижением относительной доли Т-лимфоцитов CD3+ на первом месяце жизни по сравнению с острым и затяжным течением ГВИ, достоверно более высоким содержанием относительного количества числа активированных клеток с маркерами активации CD3+CD69+, снижением клеток, экспрессирующих на своей мембране CD3+CD71+ и CD3+CD95+, что носит неблагоприятный прогностический характер.

4. Экспрессия рецептора CD95+ на лимфоцитах является прогностически благоприятным фактором, носит защитный характер, препятствующий прогрессированию заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Сучков С.В.. Шогенов З.С., Хитров А.Н. и др.* Постинфекционный аутоиммунный синдром (ПИФАС): особенности патогенеза и современные протоколы клинической иммуногенодиагностики в практике лечащего врача. Тер. архив. 2007; 4: 71–76.

2. *Gaytant MA, Steegers EA, Semmekrot BA et al.* Congenital cytomegalovirus infection: review of the epidemiology and outcome. Obstet. Gynecol. Surv. 2002; 57 (4): 245–256.

3. *Hollier LM, Grissom H.* Human herpes virus in pregnancy: cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, and varicella zoster virus. Clin. Perinatol. 2005; 23 (3): 671–696.

4. *Озерова О.Е., Кудашов Н.И., Орловская И.В., Пенькова Ж.П.* Ультразвуковые особенности структурных изменений головного мозга новорожденных с внутриутробной герпес-цитомегаловирусной инфекцией. SonoAce-International. 2006; 1: 11–14.

5. *Барычева Р.И.* Особенности иммунной адаптации у детей раннего возраста с врожденной цитомегаловирусной инфекцией. Рос. вестн. перинатол. и педиат. 2004; 3: 48–54.

6. *Кудашов Н.И.* Особенности терапии герпетического поражения головного мозга у новорожденных. Рус. мед. журнал. 2005; 13 (17): 1158–1163.

7. *Володин Н.Н, Дегтярева М.В., Симбирцев А.С. и др.* Роль про- и противовоспалительных цитокинов в иммунной адаптации новорожденных детей. Internarional Journal on Immunoreabilitation. 2000; 2 (1): 175–184.

8. *Куртасова Л.М. , Савченко А.А., Рузаева Л.А., Шмидт А.Р.* Особенности метаболизма иммунокомпетентных клеток у детей с рецидивирующей герпетической инфекцией. Вопр. вирусологии. 2002; 47 (3): 45 –48.

9. *Игнатьева Г.А.* Современные представления об иммунитете (контуры общей теории). Патол. физиол. и эксп. терапия. 2007; 2: 2–7.

10. *Сучков С.В., Маматказина Р.Р., Черепахина Н.Е. и др.* Герпесвирусная инфекция: особенности взаимодействия вируса с системой противовирусного иммунитета. Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. 2007; 6 (3): 73– 81.

11. *Маматказина Р.Р., Остроумов О.А., Ищенко А.И. и др.* Герпесвирусная инфекция и особенности противовирусного иммунитета. Вопр. гинекологии, акушерства и перинатологии. 2007; 6 (4): 49–57.

12. *Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В.* Иммунологические проблемы апоптоза. М.: Эдиториал УРСС, 2002.

13. *Mapara MY, Bargou R, Zugck C et al.* APO-I-mediated apoptosis or proliferation in human chronic B lymphocytic leukemia: correlation with Bcl-2 oncogene expression. Eur. J. Immunol. 1993; 23: 702–708.

14. *Miyawaki T. Uehara T., Nibu R. et. al.* Differential expression of apoptosis–related Fas antigen on lymphocyte subpopulations in human peripheral blood. J. Immunol. 1992; 149: 3753–3758.

15. *Реброва О.Ю.* Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М.: МедиаСфера, 2002.

© Алакаева И.Б., Непокульчицкая Н.В., 2007