



Л.В. Кравченко, А.А. Афонин

СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОКИНОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ ПЕРВЫХ МЕСЯЦЕВ ЖИЗНИ С ГЕРПЕСВИРУСНЫМ ПОРАЖЕНИЕМ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

*Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии
Россия, 344012, г. Ростов-на-Дону, ул. Мечникова 43. E-mail: larakra@list.ru*

Цель: изучить особенности неврологической симптоматики и уровень интерлейкина-2 (ИЛ-2) и интерлейкина – 4 (ИЛ-4) у детей первых месяцев жизни с поражением нервной системы при герпесвирусной инфекции.

Материалы и методы: проведено клинико-лабораторное обследование 221 ребенка первых трех месяцев жизни с поражением нервной системы при герпесвирусной инфекции (ЦМВИ инфекция, инфекция, вызванная вирусом простого герпеса, Эпштейна-Барр вирусная инфекция). Проведено динамическое иммунологическое исследование уровней интерлейкина-2 (ИЛ-2) и интерлейкина – 4 (ИЛ-4) иммуноферментным методом в сыворотке крови у детей первых месяцев жизни с герпесвирусной инфекцией. Контрольную группу составили 12 условно здоровых детей в возрасте до одного месяца, не инфицированных герпесвирусами.

Результаты: все дети с герпесвирусной инфекцией имели неврологическую симптоматику различной степени выраженности. Выявлена зависимость уровней ИЛ-2 и ИЛ-4 от вида вируса.

Выводы: более высокие показатели ИЛ-2, в начале заболевания регистрировались у детей с тяжелой формой ЦМВИ.
Ключевые слова: дети, герпесвирусная инфекция, интерлейкин.

L.V. Kravchenko, A.A. Afonin

LEVEL CYTOKINES IN WHEY OF BLOOD AT CHILDREN OF THE FIRST MONTHS OF LIFE WITH HERPESVIRUS INFECTION OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM

*Rostov Scientific Research Institute of Obstetrics and Pediatrics
43 Mechnikova St., Rostov-on-don, 344012, Russia. E-mail: larakra@list.ru*

Purpose: To study features of neurologic semiology both a level of interleukin-2 (IL-2) and interleukin-4 (IL-4) at children of the first months of life with defeat of nervous system at herpes virus infection.

Material and Methods: Clinical and laboratory examination of the 221 newborns with defeat of nervous system at herpesvirus infection (cytomegalovirus, herpes simplex virus infections, Epstein-Barr virus infections) were done. Follow-up immunological studies were undertaken to examine the levels interleukin 2 (IL -2) and interleukin - 4 (IL -4) in the sera at children of the first months of a life with herpes virus infection. Control group consisted of 12 healthy newborns.

Results: All children with herpes virus infection had neurologic semiology of various degrees. Dependence of levels IL-2 and IL-4 from a virus kind is revealed.

Summary: The significant increase in the levels of IL -2 was found at children with serious form cytomegalovirus infection.

Keywords: children, herpes virus infection, interleukin.



Введение

В структуре заболеваний ЦНС у детей инфекционные болезни составляют 50–70%. Значительно возросла роль заболеваний, вызываемых ДНК-вирусами. Отмечено, что в этой группе детей достоверно чаще формируются нарушения функции ЦНС в течение первых лет жизни [1].

По данным многих авторов [2,3] имеются указания на то, что внутриутробная герпесвирусная инфекция – социально-обусловленная, неуправляемая причина перинатальной смертности и ранней психоневрологической инвалидности: детского церебрального паралича, эпилепсии, гемипарезов, слепоты и др.

Частота герпетического поражения ЦНС по данным разных авторов колеблется от 30 до 50%, а летальность при локальных формах с поражением ЦНС составляет 50% [4,5]. Fowler K.B. et al. [6] отмечают, что от 40 до 50% новорожденных от матерей, первично пораженных цитомегаловирусом, имеют врожденную инфекцию, из них в 5 – 18% имеются клинические симптомы при рождении. Морфологическими признаками хронического течения нейроинфекций являются дистрофические изменения и очаги выпадения нейронов, диффузный или очаговый глиоз, демиелинизация, кисты, кальцификаты. Проникая в нервные ганглии, вирус простого герпеса способен вызывать, не проявляя себя ни клинически, ни даже функционально [7]. Предпосылкой развития патологического процесса является состояние иммунной системы. Значимое место в структуре противовирусного иммунитета занимают про- и противовоспалительные цитокины, в частности интерлейкины, активно оказывающие влияние на пролиферацию, дифференцировку и созревание Т-лимфоцитов [8].

Цель исследования: изучить особенности неврологической симптоматики и уровень интерлейкина-2 (ИЛ-2) и интерлейкина-4 (ИЛ-4) у детей первых месяцев жизни при ЦМВИ, инфекции, вызванной герпесом 1,2 типа, Эпштейна-Барр вирусной инфекции в зависимости от этиологии заболевания.

Материалы и методы

Проведено клинико-иммунологическое обследование 221 ребенка первых трех месяцев жизни с поражением нервной системы герпесвирусной этиологии, контрольную группу составили 12 доношенных детей первых трех месяцев жизни без проявлений герпесвирусной инфекции. В зависимости от этиологии заболевания все обследованные проспективно были разделены на четыре группы. У 67 (группа 1.1) детей отмечалась тяжелая форма ЦМВИ, 80 детей имели среднетяжелую форму ЦМВИ (группа 1.2), третью группу (n=35) составили дети с инфекцией, вызванной вирусом простого герпеса 1 и 2 типов, четвертую группу (n=39) – дети с Эпштейна-Барр вирусной инфекцией. Для выявления вирусов герпеса 1 и 2 типа (HSV I, II), вируса цитомегалии (CMV), вируса Эпштейна-Барр (EBV) использовали метод полимеразной цепной реакции (ПЦР). Материалом для исследования служили периферическая кровь и моча. Обнаружение вышеперечисленных вирусов методом ПЦР проводили с использованием наборов реагентов производства «Ампли Сенс» (ЦНИИ Эпидемиологии МЗ РФ) и оборудования, включающего многоканальный амплификатор ДНК «Терцик» (производство ДНК-Технология г. Москва) с

компьютером и программным обеспечением; определение специфических антител классов IgG и IgM в сыворотке крови к HSV I, II, CMV проводили непрямым твердофазным иммуноферментным методом с использованием стандартных наборов реагентов фирмы «Вектор-Бест», г. Новосибирск. Определение антител класса IgM к капсидному антигену (VCA) и IgG к ядерному антигену (EBNA) EBV в сыворотке крови проводили непрямым твердофазным иммуноферментным методом с использованием стандартных наборов реагентов фирмы «BCM DIAGNOSTIC» (LLC USA).

Уровень ИЛ-2 и ИЛ-4 в сыворотке крови определили с помощью набора реагентов для твердофазного иммуноферментного анализа ProCon IF2 plus, ProCon Ifgamma, ProCon IL-2, ProCon IL-4 (ООО «Протеиновый контур» г. Санкт-Петербург). 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.

Результаты и обсуждение

Диагноз герпесвирусной инфекции во всех группах был поставлен на основании выделения ДНК вируса в крови, в моче и на основании данных серологического обследования, выявлявшего более высокий, чем у матери, уровень специфических IgM и IgG в сыворотке крови у ребенка; специфические антитела в ликворе ребенка. При тяжелой форме ЦМВИ ДНК цитомегаловируса выявляли методом ПЦР в сыворотке крови и в моче в 100% случаев. Повышенный уровень IgM и IgG в ликворе отмечали у 9 (13,4%) детей этой группы. При среднетяжелой форме ЦМВИ обнаружение ДНК цитомегаловируса было также достаточно высоким (93,8%), в остальных случаях диагноз ЦМВИ был поставлен на основании обнаружения IgM в сыворотке крови (у 6 человек – 7% случаев), для обследования спинномозговой жидкости в этой группе детей показаний не было. Что касается детекции ДНК при инфекции, вызванной вирусом простого герпеса, и Эпштейна-Барр вирусной инфекции, то ее выявление в крови зарегистрировано у 54,3% и 12,8% соответственно, и в моче у 39,3% и 71,4% пациентов соответственно. В остальных случаях для постановки диагноза использовали обнаружение специфических IgG в ликворе (у 5 детей – 14,3% и у 6 детей – 15,4% соответственно).

Оценка уровня статистической значимости различий отдельных симптомов в зависимости от этиологии заболевания была проведена с группой детей с типичной генерализованной формой ЦМВИ в связи с тем, что в этой группе детей зарегистрирован наибольший процент осложнений к концу первого года жизни (таблица 1).

Большинство обследованных детей с герпесвирусной инфекцией имели различные проявления неврологической симптоматики. На основании тщательного объективного осмотра и неврологического обследования в динамике первого года жизни были выделены нозологи-



ческие группы, представленные в таблице 1. Абсолютное большинство детей во всех группах имели перинатальное гипоксически-ишемическое поражение. В группе детей с тяжелым течением ЦМВИ (37 человек – 55,2%) выявлен высокий процент пороков развития головного мозга

(13 человек – 19,4%). Геморрагическое поражение ЦНС с одинаковой частотой встречалось у больных с тяжелой формой ЦМВИ и в группе с Эпштейна-Барр вирусной инфекцией.

Таблица 1

Частота встречаемости основных симптомов, синдромов и нозологических форм неврологической патологии при герпесвирусной инфекции у детей

Неврологические синдромы	Группы										
	ЦМВИ, тяжелая форма (1.1), n = 67		ЦМВИ, среднетяжелая форма (1.2) n = 80			Инфекция, вызванная вирусом простого герпеса (2) n = 35			Эпштейна-Барр вирусная инфекция (3) n = 39		
	n	% от группы	n	% от группы	p*	n	% от группы	p*	n	% от группы	p*
Синдром угнетения	39	58,2	19	23,7	0,0001	12	34,3	0,03	26	66,7	0,4
Судороги	24	35,8	5	6,3	0,0001	11	31,4	0,8	10	25,6	0,4
Нистагм	22	32,8	8	10	0,009	8	22,8*	0,4	11	28,2	0,7
Тремор конечностей	42	62,7	48	60,0	0,5	15	42,8	0,3	25	64,1	0,4
Гипертензионно-гидроцефальный синдром	60	89,6	72	90,0	1,0	23	65,7	0,006	35	89,7	1,0
Мышечная гипотония	39	58,2	23	28,8	0,0004	11	31,4	0,01	19	48,7	0,4
Угнетение рефлексов новорожденного	47	70,1	33	41,3	0,0005	17	48,6	0,05	25	64,1	0,5
Гипертонус мышц	30	44,8	53	66,3	0,01	12	34,3	0,4	21	53,8	0,4
Синдром пирамидной недостаточности	42	62,7	45	56,3	0,5	11	31,4	0,004	18	46,1	0,1
Порок развития головного мозга	13	19,4	0	0	0,0001	4	11,4	0,4	4	10,2	0,2
Гидроцефалия	23	34,2	6	7,5	0,0001	9	25,7	0,5	9	23,0	0,3
Микроцефалия	9	13,4	3	3,8	0,04	0	0	0,03	3	7,7	0,5
Гипоксически-ишемическое поражение ЦНС	65	97,0	75	93,8	0,4	23	66,7	0,001	34	87,2	0,1
Геморрагическое поражение ЦНС	20	39,8	4	5,0	0,0001	6	17,2	0,2	10	25,6	0,8
Гипоксически-травматическое поражение ЦНС	16	23,9	9	11,3	0,5	6	17,2	0,6	8	20,5	0,8

* - различия с показателями больных группы 1.1 статистически обоснованы при $p < 0,05$

В группе с тяжелой формой ЦМВИ у 24 (35,8%) детей отмечали судороги, в то время как в группе с среднетяжелой формой ЦМВИ судороги регистрировали лишь у 5 (6,3%) детей. В группе детей с герпетической инфекцией судороги отмечали у 11 (31,4%) детей, в группе с Эпштейна-Барр вирусной инфекцией - у 10 (25,6%) детей. У подавляющего большинства больных имело место нарушение мышечного тонуса разной степени выраженности, причем мышечная гипотония преобладала в группе больных с тяжелой формой ЦМВИ (39 больных - 58,2%). Гипертонус мышц чаще обнаруживали в группе детей со среднетяжелой формой ЦМВИ (53 больных - 66,3%) и в группе с Эпштейна-Барр вирусной инфекцией (21 боль-

ных - 53,8%). Дети с тяжелой формой ЦМВИ значительно чаще имели такие проявления поражения ЦНС, как угнетение рефлексов новорожденных (47 человек - 70,1%).

У всех детей обследуемых групп в начале заболевания на первом месяце жизни отмечали достоверное повышение уровня ИЛ-2 в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой (таблица 2). Причем наиболее высокую концентрацию ИЛ-2 отмечали в группе детей с тяжелой формой ЦМВИ. Исследование уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-4 свидетельствовало о достоверном повышении его во всех исследуемых группах (таблица 3) на первом месяце жизни по сравнению с контрольной группой.



Таблица 2

Уровень ИЛ-2 (пг/мл) в сыворотке крови у детей с герпесвирусной инфекцией

Группы	Месяц обследования	1 мес.	3 мес.	6 мес.	Достоверные различия от показателей контрольной группы в возрасте 1 месяца
ЦМВИ, тяжелая форма (1.1) n = 67	Медиана	292,9 (134,6-463,0)*	164,8 (101,2-604,9)	134,0 (64,4-473,7)	0,0001
	P 1.1.-1.2	0,001	0,017	не достоверно	
	P 1.1.-2	0,0001	0,034	не достоверно	
	P 1.1.-3	0,0001	0,089	не достоверно	
ЦМВИ, среднетяжелая форма (1.2) n = 80	Медиана	139,6 (95,1-286)	116,9 (71,5-386)	123,6 (65,2-216,7)	0,001
	P 1.2-2	0,0001	0,001	не достоверно	
	P 1.2-3	0,004	0,232	не достоверно	
Герпетическая инфекция (2) n = 35	Медиана	116,8 (66,4-118)	398,2 (187,0-583)	95 (57,3-121,2)	0,001
	P 2-3	0,005	0,001	не достоверно	
Эпштейна-Барр вирусная инфекция (3) n = 39	Медиана	124,4 (54,5-415,1)	125,2(51,8-393,0)	122 (112,2-290)	не достоверно
Контрольная группа n = 11	Медиана	89,2 (57,5-107,6)	нет данных	нет данных	-

* - в скобках даны значения 1 – 3 квантиля

Таблица 3

Уровень ИЛ-4 (пг/мл) в сыворотке крови у детей с герпесвирусной инфекцией

Группы	Месяц обследования	1 мес.	3 мес.	6 мес.	Достоверные различия от показателей контрольной группы в возрасте 1 месяца
ЦМВИ, тяжелая форма (1.1) n = 67	Медиана	70,5 (42,9-113,4)*	62,8 (28,3-82,9)	67,7 (38,0-80,4)	0,01
	P 1.1.-1.2	не достоверно	не достоверно	не достоверно	
	P 1.1.-2	0,0001	0,0001	не достоверно	
	P 1.1.-3	0,01	0,001	не достоверно	
ЦМВИ, среднетяжелая форма (1.2) n = 80	Медиана	92,2 (49,3-167,1)	68,7 (50,1-93,2)	66,7 (46,9-83,7)	0,007
	P 1.2-2	0,0001	0,0001	не достоверно	
	P 1.2-3	0,001	0,0001	не достоверно	
Герпетическая инфекция (2) n = 35	Медиана	71,4 (60,2-71,8)	61,0 (41,8-73,3)	80,1 (49,6-93,7)	0,007
	P 2-3	0,007	0,03	не достоверно	
Эпштейна-Барр вирусная инфекция (3) n = 39	Медиана	81,5 (70,5-93)	70,5 (48,5-94,1)	70,2 (63,0-80,3)	не достоверно
Контрольная группа n = 11	Медиана	68,9 (50,8-84,0)	нет данных	нет данных	-

* - в скобках даны значения 1 – 3 квантиля



Интересные данные получены в группе больных с герпетической инфекцией, у которых также в начале заболевания отмечали достоверное ($p < 0,01$) повышение уровня ИЛ-2 в динамике. В отличие от детей из других групп, у которых наблюдали снижение или отсутствие изменений этого показателя к 3 месяцам, уровень ИЛ-2 значительно возрос (более чем в 3 раза), а затем к 6 месяцам достоверно ($p < 0,0001$) снижался так же, как и в других группах больных, достигая значений первого месяца жизни. Таким образом, в наших исследованиях подтверждается современная концепция об определяющем значении цитокинов в индуктивной фазе иммунного ответа, когда они обуславливают развитие базовых реакций макрофагов и антигенспецифических клеток. Полученные данные являются убедительным подтверждением того, что повышенная продукция ИЛ-2 обусловлена индукцией его синтеза патогенными агентами. О развитии воспалительных реакций свидетельствует также и усиление выработки ИЛ-4, действие которого антагонистично ИЛ-2. ИЛ-2 участвует

в развитии воспалительной реакции, индуцируя дифференцировку Т-лимфоцитов, а ИЛ-4 – В-лимфоцитов.

Выводы

1. Все дети с герпесвирусной инфекцией имели неврологическую симптоматику различной степени, причем более выраженную в группе детей с тяжелым течением ЦМВИ.

2. Повышение уровня ИЛ-2 и ИЛ-4 уже в ранние сроки заболевания может трактоваться как скрининговый маркер нарушений в иммунном статусе у детей с герпесвирусной инфекцией и требует назначения превентивной терапии, которая не позволит развиться тяжелым формам герпесвирусной инфекции.

3. Более высокие показатели ИЛ-2 в начале заболевания регистрировали у детей с тяжелой формой ЦМВИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шарапова О.В., Корсунский А.А. XXI век - инфекционные заболевания у детей отстают, но не сдаются. Педиатрия. – 2003. – №3. – С. 4–10.
2. Антонов П.В., Выдумкина С.П., Цинзерлинг В.А. 2003; Значение внутриутробного инфицирования центральной нервной системы вирусами простого герпеса в развитии энцефалопатий у детей раннего возраста // Архив патологии. – 2003. – Т. 65, № 4. – С. 43 – 46.
3. Кудашов Н.И. Повреждения нервной системы при герпесвирусной инфекции у новорожденных // Фарматека. – 2004. – № 1. – С. 44 – 48.
4. Исаков В.А., Архипова Е.И., Исаков Д.В.. Герпесвирусные инфекции человека / В.А. Исаков, – СПб.: СпецЛит, 2006. – 301 с.
5. Сидорова И.С., Макаров И.О., Матвиенко Н.А. Внутриутробные инфекции / И.С. Сидорова, – М.: МИА, 2006. – 176 с.
6. Fowler K.B. Maternal immunity and prevention of congenital cytomegalovirus infection / K.V. Fowler, S. Stango, R.F. Pass // JAMA. – 2003. – Vol. 289, N 8. – P. 1008 – 1011.
7. Сучков С.В., Маматказина Р.Р., Черепихина Н.Е., и др., Герпесвирусная инфекция: особенности взаимодействия вируса с системой противовирусного иммунитета // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2007. – Т.6, № 3. – С. 73– 81.
8. Li H., Zhang J., Kumar A. Herpes simplex virus 1 infection induces the expression of proinflammatory cytokines, interferon's and TLR7 in human corneal epithelial cells / H. Li, J. Zhang, A. Kumar et al. // Immunology. – 2006. – Vol. 117, N 2. – P. 167–176.

ПОСТУПИЛА: 11.09.2012