



А.Ю. Левкович, А.А. Афонин, М.А. Левкович, Л.В. Кравченко

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ВРОЖДЕННОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У НОВОРОЖДЕННЫХ С ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

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

Цель: выявление новых патогенетических механизмов формирования генерализованной герпетической инфекции у новорожденных детей.

Материалы и методы: проведено клиничко-лабораторное обследование 48 новорожденных в раннем неонатальном периоде. У 22 детей (основная группа) имела место генерализованная герпетическая инфекция. Контрольную группу составили 26 клинически здоровых новорожденных. Изучено содержание про- и противовоспалительных цитокинов и хемокинов (IFN- γ , IFN- α , IL-12, IL-4, MCP-1), экспрессия TLR-2 на моноцитах периферической крови, частота полиморфизма Arg753Gln гена TLR-2.

Результаты: установлено, что критерием развития генерализованной герпетической инфекции является снижение количества моноцитов, экспрессирующих TLR-2, полиморфизм Arg753Gln гена TLR-2, что ассоциировалось со снижением содержания IFN- α , IL-12 и IFN- γ в сыворотке крови.

Выводы: развитие генерализованной герпетической инфекции у новорожденных детей происходит на фоне нарушения механизмов врожденного иммунного ответа.

Ключевые слова: внутриутробные инфекции, вирус герпеса, иммунитет.

A.Y. Levkovich, A.A. Afonin, M.A. Levkovich, L.V. Kravchenko

ASSESSMENT INNATE IMMUNE RESPONSE IN INFANTS WITH GENERALIZED HERPES INFECTION

*Rostov Scientific and Research Institute of Obstetrics and Pediatrics
43, Mechnikova Str., Rostov-on-Don, 344012, Russia. E-mail: secretary@rniiap.ru*

Purpose: Identification of new pathogenic mechanisms of generalized herpes infection in newborn infants.

Materials and Methods: A clinical and laboratory examination of 48 infants in the early neonatal period. In 22 children (study group), there was a generalized herpes infection. The control group consisted of 26 clinically healthy newborns. The content of pro-and anti-inflammatory cytokines and chemokines (IFN- γ , IFN- α , IL-12, IL-4, MCP-1) expression of TLR-2 on monocytes of peripheral blood, frequency polymorphism of Arg753Gln TLR-2 gene. Results: Found that the criterion of herpes generalized infection is reduced number of monocytes expressing TLR-2 gene polymorphism Arg753Gln TLR-2, which is associated with a reduced content of IFN- α , IL-12 and IFN- γ in the serum. Summary: The development of generalized herpes infection in newborns occurs against violations of the mechanisms of the innate immune response.

Keywords: prenatal infections, herpes virus, immunity.

Введение

Герпетическая инфекция (ВПГ1,2) является важнейшей проблемой современной педиатрии, что обусловлено тяжестью течения заболевания, склонностью к генерализации, высокой частотой поражения ЦНС, трудностью своевременной диагностики и терапии [1]. У детей, перенесших генерализованные формы герпетической инфекции, развиваются серьезные нарушения здоровья, приводящие к инвалидизации

и снижению качества жизни в целом [2- 4]. Учитывая, что реализация инфекционного процесса определяется патогенностью возбудителей инфекции и эффективностью защитных сил организма, важная роль отводится состоянию иммунной системы [5]. Известно, что у новорожденных детей имеет место незрелость механизмов адаптивного компонента иммунной системы - отсутствует иммунологическая память и снижена способность к формированию специфических антител к патогенам, поэтому защита от инфекции зависит главным образом от



состояния врожденного иммунитета и их гуморальных компонентов [6]. При этом реализация специфичности врожденной иммунной системы ложится на семейство TLR-рецепторов, связывание которых микробными продуктами приводит к продукции цитокинов, что в дальнейшем определяет характер, направление и интенсивность адаптивного иммунного ответа [7]. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные данной проблеме, многие вопросы до настоящего времени остаются нерешенными.

Цель исследования - выявление новых патогенетических механизмов развития генерализованной герпетической инфекции у новорожденных детей.

Материалы и методы

Изучены клиничко-лабораторные данные 48 новорожденных в раннем неонатальном периоде. У 22 детей (основная группа) имела место генерализованная герпетическая инфекция. Контрольную группу составили 26 клинически здоровых новорожденных от матерей с физиологическим течением беременности. Диагноз внутриутробной герпетической инфекции ставился на основании клинической картины заболевания, выявления ДНК ВПГ1,2 в крови и в моче, нарастания титров специфических IgG к ВПГ в динамике, обнаружения IgM в сыворотке крови у ребенка. Определение экспрессии TLR-2(CD14+CD282+) на моноцитах проводили методом лазерной проточной цитофлуориметрии (Beckman Coulter, США). Полиморфизм аллельных вариантов генов TLR изучали методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом тест-системами для молекулярно-генетического анализа, разработанными ГосНИИгенетика (Москва). Содержание цитокинов в сыворотке крови определялось методом ИФА согласно рекомендациям производителя: IFN- γ , IFN- α , IL-12, IL-4 с использованием тест-систем «Biosource» (США), MCP-1 (моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1) - с применением тест-систем «Bender Medsystems» (Австрия). При определении статистической обоснованности различия исследуемых групп применялся критерий Манна-Уитни для независимых групп и критерий Вилкоксона для зависимых групп при максимально допустимом уровне ошибки первого рода $p=0,05$. Для анализа различия частот в двух независимых группах применялся двусторонний критерий Фишера-Ирвина. Для оценки тесноты связи отдельных показателей использовался коэффициент корреляции по Спирмену.

Результаты и обсуждение

Клиническая картина при генерализованной форме инфекции, вызванной ВПГ1,2 типа, характеризуется менингоэнцефалитом (4,6%), геморрагическим синдромом (9,1%), гепатитом (13,6%), гипотрофией (9,1%), пневмонией (31,8%), синдромом угнетения центральной нервной системы (45,5%), судорожным синдромом (40,9%). Характерным является также высокая частота гепатомегалии (4%), лихорадки (36,4%), лимфаденита (27,3%).

Развитие генерализованной герпетической инфекции у наблюдаемых новорожденных детей сопровождалось значительными изменениями в иммунном статусе.

Так в основной группе по сравнению с контрольной выявлено достоверное снижение экспрессии TLR-2

(CD14+CD282+) на моноцитах периферической крови ($43,8 \pm 8,3\%$ против $76,2 \pm 5,6\%$), что согласуется с данными [8] об ингибировании ВПГ TLR2 и снижении противовирусного иммунного ответа. Выявлена прямая корреляционная зависимость между количеством моноцитов, экспрессирующих TLR-2, и продукцией IL-12 ($r=0,60$, $p<0,05$), а также с IFN- γ ($r=-0,60$, $p<0,05$). Есть основания полагать, что снижение активности TLR-рецепторного сигнального пути вызвано нарушением взаимосвязи между врожденным и адаптивным иммунитетом. Обнаруженное снижение экспрессии TLR-2 объясняет высокую чувствительность новорожденных к герпетической инфекции и может обуславливать их участие в развитии клинической картины заболевания.

Проведенные исследования частоты полиморфизмов генов TLR-2 установили, что у новорожденных с генерализованной герпетической инфекцией в сравнении с контрольной группой частота генотипа Arg753Gln гена TLR-2 была достоверно выше (26,3% и 3,8%, соответственно, $p<0,05$). Таким образом, аллельные варианты гена TLR-2 в точках полиморфизма Arg753Gln могут являться генетическими маркерами риска развития генерализованной формы инфекции, вызванной ВПГ1,2 типа у новорожденных. Результаты исследования содержания про- и противовоспалительных цитокинов и хемокинов у новорожденных детей с генерализованной герпетической инфекцией представлены в таблице 1.

Таблица 1

Содержание про- и противовоспалительных цитокинов и хемокинов у новорожденных с генерализованной герпетической инфекцией

пг/ мл	Дети с генерализованной герпетической инфекцией (n=22)	Контрольная группа (n=26)
IFN - α	$9,1 \pm 6,2^*$	$15,9 \pm 2,1$
IL-12	$0,7 \pm 0,01^*$	$1,1 \pm 0,3$
MCP-1	$1187,2 \pm 342,4^*$	$600,5 \pm 53,9$
IFN - γ	$44,9 \pm 9,5^*$	$100,8 \pm 27,4$
IL -4	$298,4 \pm 51,8^*$	$74,1 \pm 24,8$

* - достоверность различий по сравнению с контрольной группой ($p<0,05$);

Известно, что IFN- α способствует подавлению репликации вируса, увеличивая экспрессию антигенов МНС I класса, вследствие чего повышается чувствительность вирус-инфицированных клеток к цитотоксическому действию Т-лимфоцитов. Кроме того, под действием IFN- α активируются NK-клетки, в результате чего усиливается синтез IFN- γ , являющегося важнейшим фактором в дифференцировке Т-хелперов и развитии противовирусного ответа [9].

Установлено, что у наблюдаемых детей с генерализованной герпетической инфекцией по сравнению с контрольной группой имело место достоверное снижение уровня IFN- α в сыворотке крови, ($p<0,05$).

Известно, что IFN- γ играет важную роль в развитии иммунного ответа Th1 типа. Анализ полученных дан-



ных показал, что в основной группе его содержание в сыворотке крови был в 2,2 раза ниже по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), что может приводить к снижению эффекторных функций макрофагов: их микробицидности и цитотоксичности, продукции цитокинов, супероксидных радикалов, редукции противовирусного иммунного ответа.

Моноцитарный хемоаттрактантный протеин 1 (MCP-1) - представитель семейства CC-хемокинов. В нашем исследовании у детей с генерализованной герпетической инфекцией его содержание достоверно превышало показатели контрольной группы, ($p < 0,05$). Полученные данные свидетельствуют о том, что ВПГ может использовать хемокиновые рецепторы для контроля репликации вирусов [6] и приводить к сдвигу дифференцировки Т-хелперов в направлении Th2, не обеспечивающих формирование эффективного иммунного ответа.

Интерлейкин-4 (IL-4) относится к противовоспалительным цитокинам, продуцируется преимущественно Т-лимфоцитами, относящимися к субпопуляции Th-2. Содержание IL-4 у детей основной группы было достоверно выше по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$), что отражает доминирование противовоспалительных

цитокинов и ведет к снижению противовирусной иммунной защиты.

Проведенные исследования у детей с генерализованной герпетической инфекцией выявили нарушения функционирования врожденного иммунного ответа, а выявленные иммунологические сдвиги дают основание для разработки схем ранней диагностики, что позволит снизить тяжесть течения заболевания за счет оптимизации терапии.

Выводы

1. У детей при генерализованной герпетической инфекции имеет место снижение экспрессии TLR-2 на моноцитах, приводящее к редукции синтеза IL-12 и IFN- γ , выявлены: полиморфизм Arg753Gln гена TLR-2, повышение уровня MCP-1 и IL-4.

2. Дисбаланс факторов врожденного иммунного ответа приводит к сдвигу дифференцировки Т-хелперов в направлении Th2, не обеспечивающих формирование эффективного противовирусного иммунного ответа, что является одним из механизмов развития генерализованной герпетической инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ожегов А. М., Петрова И. Н., Тарасова Т. Ю. Новые возможности иммуотропной терапии врожденных инфекций у детей // Практическая медицина. – 2012. – № 5 (60). – С. 160–165.
2. Бочарова И. И., Аксенов А. Н., Башакин Н. Ф. Итоги и перспективы научных исследований по проблеме внутриутробной инфекции новорожденных // Российский вестник акушера-гинеколога. – М., 2007. – Т. 7. – № 5. – С. 60–63.
3. Буданов П. В., Стрижаков А. Н. Этиология, патогенез, диагностика и лечение внутриутробной инфекции // Вопр. гинекологии, акушерства перинатологии. – 2010. – Т. 9. – № 3. – С. 61–69.
4. Gleason Ch. A., Devaskar Sh. U. Avery's Diseases of the Newborn // Ninth Edition Chapter. – 2012. – № 36. – P. 445–467.
5. Паршина О.В., Малиновская В.В., Новикова С.В., Гусева Т.С., Дмитриева Е.В., Бочарова И.И., Гайдера Л.А. Влияние ви-
- феронотерапии беременных с урогенитальными инфекциями на состояние врожденного иммунитета у новорожденных // Иммунология. – 2009. – № 6. – С. 346–349.
6. Ковальчук Л. В., Игнатъева Г. А., Ганковская Л. В. Иммунология. Методы. Учебное пособие для мед. вузов. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 245 с.
7. Козлов И. Г. Сигнальные рецепторы врожденного иммунитета: новая молекулярная мишень для диагностики и терапии воспалительных заболеваний // Вестник Российской Академии медицинских наук. – 2011. – № 1. – С. 42–50.
8. Yao X.D. Herpes simplex virus type 2 virion host shutoff protein suppresses innate dsRNA antiviral pathways in human vaginal epithelial cells // J. Gen. Virol. – 2011. – Vol.92, N9. – P.1981–1993.
9. Шульженко А.Е., Зуйкова И.Н. Подходы к иммунотерапии рецидивирующего простого герпеса // Эффективная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии. – 2010. – № 3. – С. 2–7.

ПОСТУПИЛА 26.07.2013