



15. Habig W.H., Pabst M.I., Jacoby W.B. Glutathione-S-Transferase. The first step in mercapturic acid formation. // J. Biol. Chem. - 1974. - V.249. - P.7130-7139.
16. Юсупова Л.Б. О повышении точности определения активности глутатионредуктазы эритроцитов // Лабораторное дело, 1989. - №4. - с. 19-21.
17. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups // Arch. Biochem. - 1959. - Vol. 82.- P. 70-77.
18. Кулинский В. И., Колесниченко Л. С. Система глутатиона II. Другие ферменты, тиол-дисульфидный обмен, воспаление и иммунитет, функции.// Биомедицинская химия. - 2009. - Т. 55., №4. - С.365-379.
19. Sauls D.L., Arnold E.K., Bell C.W. Pro-thrombotic and pro-oxidant effects of diet-induced hyperhomocysteinemia // Thromb. Res. - 2007. - Vol. 120. - № 1. - P. 117-126.
20. Кураев К.М., Березовский Д.П., Микашинович З. И. и [др.] Особенности окислительного стресса и морфометрические показатели сосудов микроциркуляторного русла при экспериментальной умеренной гомоцистеинемии // Валеология: науч.-практ. журнал. - 2012. - № 3. - С. 7-12.

ПОСТУПИЛА 05.06.2015

УДК 6181-076 -011 367: 612. 017. 1.

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

РОЛЬ ЭКСПРЕССИИ TLR₂, TLR₆ И ПОЛИМОРФИЗМА ИХ ГЕНОВ В РАЗВИТИИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ И ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Ростовский НИИ акушерства и педиатрии

344012, Ростов-на-Дону, ул. Мечникова 43. E-mail: xlma@mail.ru.

Цель: выявление новых механизмов развития генерализованной герпесвирусной инфекции (ЦМВИ и инфекции, вызванной ВПГ 1,2 типа) у новорожденных детей.

Материалы и методы: изучены данные 69 новорожденных с генерализованной герпесвирусной инфекцией в раннем неонатальном периоде. I группу (n=47) составили дети с генерализованной цитомегаловирусной инфекцией. Во II группу (n=22) вошли дети с генерализованной формой инфекции, вызванной вирусом герпеса 1,2 типа. Контрольную группу составили 26 здоровых новорожденных. Определение экспрессии TLR-2(CD14+CD282+) и TLR-6(CD14+CD286) на моноцитах проводили методом лазерной проточной цитофлуорометрии (Beckman Coulter, США). Полиморфизм аллельных вариантов генов TLR изучали методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом тест-системами для молекулярно-генетического анализа, разработанными ГосНИИгенетика (Москва).

Результаты: снижение экспрессии TLR-2 и TLR-6 имеет место при генерализованной ЦМВИ только у детей с полной клинической симптоматикой. У новорожденных с тяжелой герпетической инфекцией отмечается снижение экспрессии TLR-2. Дефекты в генах TLR выявляются у 68,4 % детей при генерализованной ЦМВИ с полной клинической симптоматикой в виде полиморфизма Ser249Pro гена TLR-6 и у 26,3% детей с тяжелой герпетической инфекцией - в виде полиморфизма Arg753Gln гена TLR-2.

Заключение: приведены новые данные, подтверждают роль нарушений иммунной системы в патогенезе генерализованной герпесвирусной инфекции. Установлено, что у детей с врожденной генерализованной герпесвирусной инфекцией ведущим в формировании иммунного ответа является нарушение в системе факторов врожденного иммунитета.

Ключевые слова: внутриутробная инфекция, герпес вирусы, врожденный иммунитет.

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

THE ROLE OF EXPRESSION OF TLR₂, TLR₆ AND POLYMORPHISM OF THEIR GENES IN THE DEVELOPMENT OF GENERALIZED CYTOMEGALOVIRUS AND HERPETIC INFECTIONS IN NEWBORNS

Rostov research Institute of obstetrics and Pediatrics

43 Mechnikov st., Rostov-on-don, 344012, Russia. E-mail: xlma@mail.ru.



Purpose: identification of new mechanisms of the development of generalized herpes virus infection (current cytomegalovirus infections and infections caused HSV1,2 types) in newborns.

Materials and Methods: the data reviewed 69 newborns with generalized herpes virus infection in the early neonatal period. I group (n=47) amounted to children with generalized cytomegalovirus infection. In the second group (n=22) were included children with generalized form of the infection caused by the herpes virus 1,2 type. The control group consisted of 26 healthy newborns. The definition of the expression of TLR-2(CD14+CD282+) and TLR-6(CD14+CD286) on monocytes conducted by laser flow cytofluorometry (Beckman Coulter, USA). Polymorphism of allelic variants of genes TLR studied by PCR and subsequent restriction fragments length polymorphism analysis test systems for molecular genetic analysis, Moscow.

Results: the decrease of expression of TLR-2 and TLR-6 has a place in generalized the current cytomegalovirus infections in children and adults with complete clinical symptoms. Newborns with severe herpes infection, there is a decrease in the expression of TLR-the fact in the genes TLR are identified by 68.4 % of children with generalized the current cytomegalovirus infections with full clinical symptoms in the form of polymorphism Ser249Pro gene TLR-6 and 26.3% of children with severe herpes infection in the form of polymorphism Arg753Gln gene TLR-2.

Summary: the new data confirm the role of immune system in the pathogenesis of generalized herpes infection. It is established, that in children with congenital generalized herpes virus infection leading to the formation of an immune response is a breach in the system of factors of innate immunity.

Key words: fetal infection, herpes viruses, innate immunity.

Введение

Герпесвирусная инфекция (ЦМВИ и инфекция, вызванная ВПГ 1,2 типа) 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 [2,3,4]. В неонатальном периоде защита от инфекции зависит, главным образом, от функционирования системы врожденного иммунитета, важным компонентом которой являются TLR-подобные рецепторы и их гуморальные составляющие [5,6]. Существующие различия сигнальных каскадов TLR проявляются в выработке различных цитокиновых комбинаций. Дефекты в системе TLR: нарушение экспрессии TLR, выработки эффекторных молекул лежит в основе реализации инфекции [7]. Уровни иммунологической реактивности закреплены генетически, а полиморфизм генов, кодирующих экспрессию TLR, может приводить к снижению его функций, к нарушению защитных реакций организма и иметь определяющее значение в возможности развития ВУИ у новорожденного [8]. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные данной проблеме, многие вопросы до настоящего времени остаются нерешенными.

Цель исследования - выявление новых механизмов развития генерализованной герпесвирусной инфекции (ЦМВИ и инфекции, вызванной ВПГ 1,2 типа) у новорожденных детей.

Материал и методы

Изучены данные 69 новорожденных с генерализованной герпесвирусной инфекцией в раннем неонатальном периоде. I группу (n=47) составили дети с генерализованной цитомегаловирусной инфекцией, которые согласно классификации Орехова К.В. (2002) были разделены на две подгруппы: подгруппу I.1. (n=29) – с типичной генерализованной формой с полной клинической симптоматикой; подгруппу I.2. (n=18) – с типичной генерализованной формой с неполной

клинической симптоматикой. Во II группу (n=22) вошли дети с генерализованной формой инфекции, вызванной вирусом герпеса 1,2 типа. Контрольную группу составили 26 здоровых новорожденных, родившихся у женщин с физиологическим течением беременности и родов. Диагноз внутриутробной герпесвирусной инфекции ставился на основании клинической картины заболевания, выявления ДНК ЦМВ и ВПГ 1,2 в крови и в моче, нарастания титров специфических IgG к ЦМВ и ВПГ 1,2 в динамике, обнаружения IgM в сыворотке крови у ребенка. Определение экспрессии TLR-2(CD14+CD282+) и TLR-6(CD14+CD286) на моноцитах периферической крови проводили методом лазерной проточной цитофлуорометрии (Beckman Coulter, США). Полиморфизм аллельных вариантов генов TLR изучали методом ПЦР с последующим рестрикционным анализом тест-системами для молекулярно-генетического анализа, разработанными ГосНИИГенетика (Москва). 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.

Результаты и их обсуждение

Клиническая картина при генерализованной ЦМВИ с полной клинической симптоматикой и инфекции, вызванной ВПГ 1,2 типа, характеризуется менингоэнцефалитом (6,9% и 4,6% соответственно), геморрагическим синдромом (44,8% и 9,1%), гепатитом (37,9%, и 13,6%), патологической убылью массы тела (41,4% и 9,1%), развитием пневмонии (51,7% и 31,8%), синдрома угнетения нервной системы (62,1% и 45,5%), судорожного синдрома (51,7% и 40,9%). Характерным для генерализованной ЦМВИ с полной клинической симптоматикой и инфекции, вызванной ВПГ 1,2 является также высокая частота гепатомегалии (51,7% и 36,4%), лихорадки (37,9% и 36,4%), лимфаденита (20,7% и 27,3%, соответственно). При генерализованной ЦМВИ с неполной клинической симптоматикой случаев менингоэнцефалита не зарегистрировано; геморрагический синдром и патологическая убыль массы тела встречались значительно



реже, чем при генерализованной ЦМВИ с полной клинической симптоматикой (в 11,1% и 5,6% соответственно).

Развитие генерализованной герпесвирусной инфекции у наблюдаемых новорожденных детей сопровождалось значительными изменениями показателей врожденного иммунитета. Так, в I.1. подгруппе выявлено достоверное снижение экспрессии TLR-2 (CD14+CD282+) на моноцитах периферической крови по сравнению с контрольной группой (45,4±8,9 % и 76,2±5,6 % соответственно, p<0,05) и по сравнению со I.2. подгруппой (45,4±8,9 % и 65,1±6,1 % соответственно, p<0,05). Установлена обратная корреляционная зависимость с уровнем вирусной нагрузки (r=0,81, p<0,05). Аналогичные изменения были характерны и для TLR-6 (CD14+CD286+): достоверно более низкие значения экспрессии TLR-6 определялись в I.1. подгруппе (44,6±5,9 %) относительно контроля (61,1±1,4 %, p<0,05) и относительно I.2 подгруппы (57,8±2,2 %, p<0,05). Обнаруженное снижение экспрессии TLR-2 и TLR-6 объясняет высокую чувствительность к ЦМВИ и может обуславливать их участие в развитии клинической картины заболевания. Во II груп-

пе также выявлено достоверное снижение экспрессии TLR – 2 (CD14+CD282+) по сравнению с контрольной группой (43,8±8,3% против 76,2±5,6%, p<0,05), что согласуется с данными Yao X.D., Rosenthal K.L., (2011) об ингибировании ВПГ TLR-2- и снижении противовирусного иммунного ответа.

Проведенные исследования частоты полиморфизмов генов TLR-2 и TLR-6 у детей с генерализованной ЦМВИ в зависимости от выраженности клинических проявлений заболевания установили, что у новорожденных с полной клинической симптоматикой в сравнении с подгруппой детей с неполной клинической симптоматикой, частота генотипа Ser/Pro была достоверно выше (68,4 % и 12,5 % соответственно, p<0,05), а генотипа Pro/Pro достоверно ниже (26,3 % и 81,3 % соответственно, p<0,05), (табл.1).

Таким образом, аллельные варианты гена TLR-6 в точках полиморфизма Ser249Pro могут являться генетическими маркерами развития генерализованной ЦМВИ с полной клинической симптоматикой, а генотип Pro/Pro является протективным в отношении тяжести течения генерализованной ЦМВИ. .

Таблица 1.

Распределение частот генотипов и аллелей гена TLR-6 среди пациентов I группы в зависимости от тяжести заболевания

			Дети с генерализованной ЦМВИ	
			I подгруппа	II подгруппа
количество обследованных			19	16
TLR6 Ser249 Pro	генотипы	Ser/ Ser	1(5,3%)	1(6,2%)
		Ser/ Pro	13(68,4%)*	2(12,5%)
		Pro/ Pro	5(26,3%)*	13(81,3%)
	аллели	Аллель Ser	15	4
		Аллель Pro	23(60,5%)	28(87,5%)

*- достоверность различий между подгруппами I.1 и I.2(p<0,05)

В группе детей с инфекцией, вызванной ВПГ 1,2 типа (II группа), нами получено достоверное различие в распределении генотипа Arg753Gln гена TLR-2 по сравнению с контрольной группой (26,3% и 3,8%, соответственно, p<0,05), (табл.2). Таким образом, аллельные варианты

гена TLR-2 в точках полиморфизма Arg753Gln могут являться генетическими маркерами риска развития тяжелой формы инфекции, вызванной ВПГ 1,2 типа у новорожденных.

Таблица 2.

Распределение частот генотипов и аллелей гена TLR-6 среди пациентов II группы

			Дети с генерализованной герпетической инфекцией	Контрольная группа
количество обследованных			19	26
TLR2 Arg753Gln	генотипы	Arg/Arg	14(73,7%)	25(96,2%)
		Arg/Gln	5(26,3%)*	1(3,8%)
		Gln/ Gln	-	-
	аллели	Аллель Arg	33	51
		Аллель Gln	5 (13%)	1 (2%)

*- достоверность различий между II и контрольной группой (p<0,05)



Заключение

Приведены новые данные, подтверждающие роль нарушений иммунной системы в патогенезе генерализован-

ной герпесвирусной инфекции. Установлено, что у детей с врожденной генерализованной герпесвирусной инфекцией ведущим в формировании иммунного ответа является нарушение в системе факторов врожденного иммунитета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ожегов А. М., Петрова И. Н., Тарасова Т. Ю. Новые возможности иммунотропной 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 // Вопросы 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., Гайдерова Л.А. Влияние виферонотерапии 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. Ганковская О.А., Ганковская Л.В., Сомова О.Ю., Зверев В.В. Toll-подобные рецепторы, распознающие лиганды вируса герпеса // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2009. – 2. – С.108–111.

ПОСТУПИЛА 08.09.2015

УДК: 39+618.2:618.36:618.29

Т.Л. Боташева, Н.В. Ермолова, Е.М. Александрова, Н.В. Палиева, А.А. Фролов, Е.И. Аствацатурьян, И.А. Денисенко

АНАТОМО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМЫ «МАТЬ-ПЛАЦЕНТА-ПЛОД» ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕРЕМЕННОСТИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЭТНИЧЕСКОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ ЖЕНЩИН

*Ростовский научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии
ул. Мечникова 43, г. Ростов-на-Дону, ГСП-704, 344012, Россия. Тел.: 232-18-40; факс: 232-57-63.
E-mail: Secretary@rniiap.ru*

Цель: изучение анатомо-функциональных особенностей различных звеньев функциональной системы «мать-плацента-плод» в динамике физиологической беременности с учетом этнической принадлежности женщин.

Материалы и методы: проведены проспективные лонгитюдные исследования морфо-функционального состояния матерей и их плодов русской, чеченской и ингушской национальностей в динамике физиологической беременности.

Результаты: выявлены статистически значимые отличия в морфометрических параметрах, гормональном статусе материнского организма, а также темпа роста плода, определяемые этнической принадлежностью.

Заключение: полученные результаты свидетельствуют о необходимости разработки индивидуальных региональных нормативов для ультразвукового акушерского скрининга. Представительницы кавказских национальностей имеют более высокие риски для развития метаболического синдрома.

Ключевые слова: физиологическая беременность, этническая принадлежность, морфометрия, фетометрия, доплерометрия, гормональный статус.