

УДК 612.017.11:616.902-053.2

Щербак В.А., Попова Н.Г., Степанова Н.Н.

**КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ НЕДОНОШЕННЫХ ДЕТЕЙ
РАЗЛИЧНОГО ГЕСТАЦИОННОГО ВОЗРАСТА, ИНФИЦИРОВАННЫХ
ЦИТОМЕГАЛОВИРУСОМ***ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия*

Резюме. *Обследовано 116 недоношенных со сроком гестации (СГ) 28-37 недель. Больные были разделены на 2 группы. Группу исследования составили 65 детей, инфицированных ЦМВ. В группу сравнения вошел 51 ребенок соответствующего СГ без инфекционной патологии. Данные группы были разделены на 3 подгруппы в зависимости от СГ. Установлено, что состояние иммунной системы у преждевременно рожденных детей напрямую зависит от срока гестации. Чем меньше срок гестации, тем сильнее снижены показатели иммунного статуса. В группе детей, рожденных на сроке гестации менее 32 недель, число CD3+ уменьшено на 13,5%, CD4+ - на 10,4%, CD8+ - на 24,4%, CD25+ - на 23,5%, а соотношение CD4+/CD8+ - увеличено на 36%. У более зрелых младенцев данные приближаются к контролю. Цитомегаловирус усиливает состояние иммунодефицита. Для цитомегаловирусной инфекции у недоношенных детей характерен 2 тип взаимодействия микро- и макроорганизма. Дефицит иммуноглобулина А обусловлен не только незрелостью недоношенного ребенка, но и непосредственным действием вируса на поджелудочную железу.*

Ключевые слова: *недоношенные дети, иммунитет, цитомегаловирусная инфекция.*

*Shcherbak V.A., Popova N.G., Stepanova N.N.***CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL FEATURES OF PREMATURE INFANTS OF
DIFFERENT GESTATIONAL AGE WITH CYTOMEGALOVIRUS INFECTION**

Summary. *116 preterm infants of gestation age (GA) 28-37 weeks were examined. Patients were divided into 2 groups: main group of 65 children infected with CMV. In the comparison group 51 children entered the relevant GA without the infectious disease. The groups were divided into 3 subgroups according to the GA. It was found that the immune system in premature infants depends on gestational age. The lower the gestational age, the greater the reduced parameters of immune status were registered. In the group of children born at gestational age less than 32 weeks, the number of CD3 + decreased by 13,5%, CD4 + - by 10,4%, CD8 + - by 24,4%, CD25 + - by 23.5%, and the ratio of CD4 + / CD8 + - increased by 36%. In the more mature infants are close to the data control. CMV increases the state of immunodeficiency. For cytomegalovirus infection in premature infants is typical the second type of interaction of micro-and macro-organisms. IgA deficiency is due not only immature premature infant, but by direct action of the virus in the pancreas.*

Keywords: *the premature children, immunity, cytomegalovirus infection.*

Внутриутробные инфекции занимают одно из ведущих мест в структуре перинатальной смертности, являясь основной причиной летальности или осложняя течение основного заболевания [12, 13]. Из года в год распространенность цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ) среди взрослых и детей возрастает (число серопозитивных пациентов в разных странах колеблется в среднем от 44 до 85%, больных – от 0,2 до 3%) [10, 15]. Высокая частота внутриутробного ин-

фицирования вирусом цитомегалии обусловлена целым рядом факторов, основными из которых являются эпидемиологические особенности, а также состояние иммунитета беременных женщин, плодов и новорожденных [1, 9]. При бессимптомном течении внутриутробной цитомегалии у 5-17% детей впоследствии имеются различные нарушения здоровья (сенсорная глухота, задержка психомоторного, речевого развития)[14, 17]. Среди всех внутриутробных инфекций именно цитомегалия является ведущей причиной поражения головного мозга и потери слуха новорожденных [19]. Интранатальное заражение обычно приводит к латентной инфекции, которая клинически манифестирует на фоне снижения иммунитета. По истечении инкубационного периода у новорожденного возможно возникновение гепатоспленомегалии, лимфаденопатии и пневмонии. Вот почему ранняя диагностика и коррекция иммунных нарушений у этой группы больных является актуальной проблемой педиатрии.

Целью работы стало изучение клеточного и гуморального иммунитета у недоношенных детей различного гестационного возраста, инфицированных цитомегаловирусом.

Материалы и методы. Всего обследовано 116 детей. Критерии включения в исследование: новорожденные дети со СГ 28-37 недель с подтвержденным внутриутробным инфицированием ЦМВ.

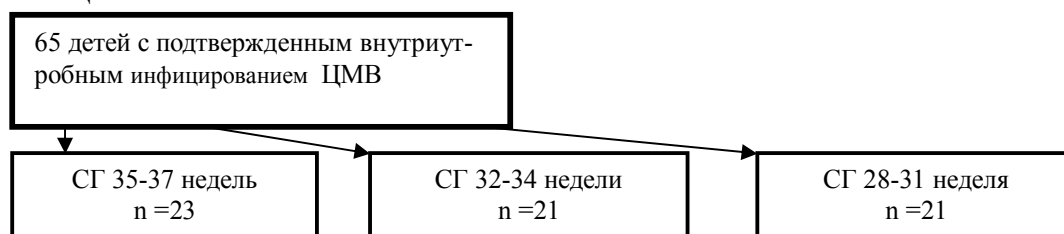


Рис.1. Дизайн исследования.

Деление произведено соответственно периодам развития иммунной системы. Определение гестационного возраста проводилось по совокупности морфологических признаков (шкала ВОЗ, 1976) и оценке нейромышечной зрелости новорожденного по Дж. Боллард и соавт. (1979).

Группу сравнения составил 51 недоношенный ребенок соответствующего СГ без инфекционной патологии. Критические признаки в группе сравнения были связаны с адаптацией к внеутробной жизни, которые стабилизировались к 7-12-ти дневному возрасту и полностью исчезли на 15-18 сутки жизни. При этом тяжесть состояния была обусловлена церебральной ишемией I-II степени, РДС I типа, конъюгационной желтухой, появляющейся с конца 2-х суток жизни и протекавшей без признаков билирубиновой интоксикации и билирубиновой энцефалопатии на фоне морфофункциональной незрелости.

Исследования проводились на 8-10-й день жизни методом магнитной сепарации с определением абсолютного числа субпопуляций лимфоцитов и содержания сывороточных IgA, IgM, IgG в крови с использованием реактивов фирмы DYNAL (Норвегия). Подтверждение ЦМВ инфекции проводилось методом ИФА (специфические IgM и IgG с нарастанием титра в динамике и авидностью) наборами «Вектор – БЕСТ». При проведении ПЦР крови и мочи у детей полуколичественным и количественным методом не был обнаружен ЦМВ. Определение трипсина кала проводили по методу Швахмана.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета статистических программ Statistica 8,0 (StatSoft) [3, 11]. Перед проведением расчетов все вариационные ряды тестировались на нормальность при помощи расчета статистики Колмогорова-Смирнова, а также методом оценки коэффициентов асимметрии и эксцесса. Распределение практически

всех вариационных рядов не подчинялось критериям нормальности, поэтому в дальнейшем в анализе применялись методы непараметрической статистики. Определялись медиана (Me) и межквартильный интервал (от 25 до 75 перцентиля). Отношение шансов рассчитывали по Р.Флетчеру. Статистически значимыми считали различия при значениях $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. При анализе анамнестических данных о течении беременности установлено, что в 100% при обследовании женщин в этот период определялся специфический IgG к цитомегаловирусу (ЦМВ). У 76% женщин зарегистрирован респираторно-катаральный синдром с повышением температуры преимущественно на ранних сроках, что, возможно, является подтверждением внутриутробного инфицирования.

Средний вес при рождении в первой подгруппе составлял 1290 ± 83 грамма, однако у 60% была диагностирована задержка внутриутробного развития (ЗВУР). Во второй подгруппе средний вес при рождении был 1464 ± 206 грамма, ЗВУР выявлена у 68,7% младенцев. В третьей же подгруппе 2460 ± 305 грамм, но ЗВУР отмечалась у 77,8% детей.

У 92,3% детей были выявлены низкоавидные IgG. Наличие низкоавидных IgG в большинстве случаев, возможно, явилось результатом реактивации вируса на фоне сниженного иммунитета женщины в период беременности. Специфические IgM не выявлялись ни у кого из обследуемых детей. У детей, вошедших в группу сравнения, IgG к ЦМВ не было.

Из клинических проявлений ЦМВИ отмечалась затяжная желтуха – у 58 (89,2%) ребенка, гепатоспленомегалия – у 51 (78,4%). В общем анализе крови у 24 (57,1%) детей, рожденных на сроке гестации менее 35 недель, имел место лимфоцитоз до конца неонатального периода при умеренной лейкопении при сопоставлении с группой сравнения ($p < 0,01$). Этот факт нельзя связать только с особенностями иммунитета у данной возрастной группы, но и прямым действием цитомегаловируса на организм в целом. У 10 (43,4%) новорожденных со сроком гестации более 35 недель отмечалось достоверное повышение ($p < 0,05$) общего числа лейкоцитов, при сопоставлении с группой сравнения, с содержанием лимфоцитов на верхней границе нормы до конца неонатального периода ($p < 0,05$). Это объясняется более «зрелой» системой иммунитета в данной возрастной группе, и, следовательно, более адекватным иммунным ответом на ЦМВ.

Таблица 1

Показатели гуморального иммунитета у детей, инфицированных ЦМВ

Показатель	Гестационный возраст детей					
	СГ 28-31 нед.		СГ 32-34 нед.		СГ 35-37 нед.	
Число обследованных	n=17 контроль	n=21 инфицированных ЦМВ	n=16 контроль	n=21 инфицированных ЦМВ	n=18 контроль	n=23 инфицированных ЦМВ
Ig M г/л	0	0	0	0	0	0
Ig G г/л	4,44 (4,00; 4,66)	3,01 (3,45; 4,02) $p=0,019$	4,37 (3,88; 4,85)	4,28 (3,44; 4,87)	4,44 (4,31; 4,56)	4,49 (4,18; 4,645) $p_1 < 0,001$
Ig A г/л	0	0	0,57 (0,43; 0,76)	0	0,93 (0,78; 1,12)	0,42 (0,28; 0,59) $p_1 < 0,001$
CD19+ 10^9 /л	89,50 (87,00; 94,50)	80,00 (78,50; 84,50) $p < 0,001$	96,02 (91,00; 101,50)	95,23 (92,00; 99,25) $p_1 < 0,001$	95,01 (94,00; 101,00)	94,20 (93,25; 99,75) $p_1 < 0,001$

Примечание: n - число обследованных;

p - уровень значимости различий по сравнению с контролем;

p_1 - уровень значимости различий по сравнению с группой 28-31 нед.

При анализе показателей гуморального иммунитета установлено, что IgM не определялся у детей, инфицированных ЦМВ, во всех подгруппах. Его отсутствие, вероятно, объясняется влиянием вируса на и без того скудную выработку антител по причине незрелости. IgA в группах со СГ менее 30 недель не зафиксирован, ни у инфицированных, ни у здоровых детей. На СГ 32-34 недели IgA появляется у здоровых, а на СГ 35-37 недель он в контроле выше, чем у инфицированных. Содержание CD 19+ достоверно было снижено у детей, инфицированных ЦМВ, однако максимально низкое содержание отмечалось у младенцев на сроке гестации менее 30 недель в сравнении с группой контроля. В группе со СГ 35–37 недель уровень В-лимфоцитов значительно не отличался от группы сравнения.

Как известно, ЦМВ обладает тропностью к клеткам поджелудочной железы и нарушает ее функционирование. Это подтверждается при исследовании протеолитической активности кала: у 56 детей отмечалось снижение ферментной активности до 1: 2-3 разведения (из них у 46 больных группы исследования и 10 – группы сравнения). Отношение шансов составило 1: 6,15. Иначе говоря, риск развития снижения протеолитической активности поджелудочной железы у детей, инфицированных ЦМВ, в 6,15 раза выше, чем без ЦМВ.

По данным УЗИ в группе исследования отмечалась отечность головки у 9 детей, увеличение размеров поджелудочной железы у 12 новорожденных. Аналогичные изменения в группе сравнения не диагностировались.

Наличие нейтрального жира (++) в группе исследования выявлено у 21 детей и (++++) у 25 детей. В группе сравнения, соответственно у 6 и 4 детей. Нарушение ферментации явилось пусковым звеном размножения условно-патогенной микрофлоры и, следовательно, снижения IgA.

Выявлена прямая корреляционная связь ($r=+0.63$, $p<0,05$) между уровнем IgA и протеолитической активностью. Снижение переваривающей способности способствует развитию избыточного бактериального роста, что нарушает деятельность иммунной системы желудочно-кишечного тракта.

При ЦМВИ развивается иммунная перестройка макроорганизма, особенно опасная для недоношенных детей, являющихся иммунодефицитными: показатели неспецифических факторов защиты низкие, большое количество «ранних» интерферонов, то есть, снижены антивирусные, антипролиферативные и иммуномодулирующие свойства, а также собственные антитела ребенка являются полиреактивными [4].

Следы Ig M появляются у плода после 8-10 недели гестации, Ig G - несколько позже. Синтез IgA доказан после 30 недели внутриутробного развития. Еще до начала синтеза молекул Ig A секретный компонент присутствует в свободном виде, а образование полноценной молекулы IgA происходит позднее[8]. Плод получает через плаценту только IgG на те антигены, с которыми контактировала мать, и концентрация их быстро снижается в первые 20 дней после рождения, т.е. не обеспечивает эффективный иммунный ответ [5]. Таким образом, несмотря на способность недоношенного ребёнка синтезировать макроглобулины и антитела, это не обеспечивает ему надлежащую защиту, особенно на фоне внутриклеточных инфекций, таких как ЦМВИ.

Показатели клеточного иммунитета у детей, инфицированных ЦМВ

Показатель	Гестационный возраст детей					
	СГ 28-31 нед.		СГ 32-34 нед.		СГ 35-37 нед.	
Число обследованных	n=17 контроль	n=21 инфицированных ЦМВ	n=16 контроль	n=21 инфицированных ЦМВ	n=21 контроль	n=21 инфицированных ЦМВ
Лейкоциты 10 ⁹ /л	7,20 (6,75; 8,55)	6,10 (5,35; 6,35) p<0,001	7,60 (6,90; 8,40)	7,40 (6,05; 9,43) p ₁ =0,018	8,20 (6,80; 9,10)	10,15 (9,33; 11,95) p=0,003 p ₁ <0,001 p ₂ =0,028
Лимфоциты, %	58,00 (54,00; 62,50)	70,00 (61,00; 73,50) p=0,009	61,50 (56,50; 64,50)	69,50 (67,25; 71,25) p=0,004	62,00 (57,00; 66,00)	58,00 (48,50; 69,00) p ₁ =0,031
Лимфоциты, абс.	4176 (3789; 4896)	4270 (3986; 4971)	4674 (4358; 5012)	5143 (4853; 5542) p=0,004 p ₁ <0,001	5084 (4589; 5320) p ₁ <0,001	5887 (5636; 6175) p=0,0037 p ₁ <0,001
CD3+ 10 ⁹ /л	2264,00 (2026,75; 2451,00)	1960,00 (1819,50; 2171,5) p=0,039	2394,00 (2282,50; 2444,0)	2353,00 (2089,75; 2446,75) p ₁ =0,041	2361,00 (2340,0; 2389,00)	2368,00 (2255,25; 2447,50) p ₁ <0,001
CD4+ 10 ⁹ /л	485,50 (460,5; 497,25)	435,00 (361,00; 486,50)	482,00 (458,50; 498,0)	457,00 (432,25; 496,0)	471,00 (435,00; 487,00)	463,00 (450,75; 470,75)
CD8+ 10 ⁹ /л	259,50 (206,50; 277,5)	196,00 (154,50; 206,50) p=0,005	246,00 (236,5; 250,5)	245,00 (202,5; 270,0) p ₁ =0,017	249,00 (204,00; 277,00)	243,50 (223,50; 284,50) p ₁ <0,001
CD25+ 10 ⁹ /л	1399,00 (1367,50; 1429,00)	1074,00 (1031,50; 1311,50) p<0,001	1310,00 (1288,0; 1360,0)	1207,00 (1133,0; 1301,50)	1349,00 (1299,00; 1383,00)	1346,50 (1271,00; 1369,75)
CD4+ / CD8+	1,80 (1,70; 2,08)	2,45 (1,88; 2,60) p=0,036	1,90 (1,80; 2,00)	1,90 (1,60; 2,03)	1,80 (1,60; 1,98)	1,90 (1,80; 2,00)

Примечание: n - число обследованных; p - уровень значимости различий по сравнению с контролем; p₁ - уровень значимости различий по сравнению с группой 28-31 нед.

Число лейкоцитов периферической крови с увеличением СГ возрастает, также увеличивается общее количество лимфоцитов (таблица 2). У инфицированных детей абсолютное число лимфоцитов выше, чем в контроле, это связано, по-видимому, с компенсаторной реакцией. В группе детей, рожденных на сроке гестации менее 30 недель, все показатели клеточного иммунитета были достоверно снижены по сравнению с контролем. Так, число CD3+ уменьшено на 13,5%, CD4+ - на 10,4%, CD8+ 24,4%, CD25+ - на 23,5%, а соотношение CD4+/CD8+ - увеличено на 36%. В остальных группах показатели не отличались от контроля.

Известно, что ЦМВ оказывает выраженное влияние на состояние иммунитета в целом. В процессе созревания Т- и В-лимфоцитов антиген вируса связывается со специфическими рецепторами клеток, нарушая процессы распознавания вирусных частиц и вызывая клональную элиминацию лимфоцитов, требуемых для развития иммунного ответа на данный вирус. Такая своеобразная маскировка антигенов вируса препятствует "атаке" цитомегалических

клеток Т-киллерами [18]. Противовирусный иммунитет недостаточно эффективен вследствие дефицита противовирусных антител, системы интерферона, снижения функции макрофагов, Т-лимфоцитов [16]. То есть наблюдается физиологическая иммунологическая недостаточность, связанная с созреванием органов иммуногенеза.

Изменения в системе иммунитета в литературе описываются, как правило, у доношенных новорожденных. Сведений о подобных изменениях у преждевременно рожденных детей очень мало. В результате чего, опираясь на наши данные, возможно предположить, что подобная картина развивается и у детей, родившихся раньше срока, однако, ситуация усугубляется еще и незаконченным формированием иммунитета. То есть чем меньше срок гестации, тем больше проявлений снижения звеньев иммунитета. Снижение клеточного иммунитета может быть одной из причин бактериальных инфекций.

Данный факт подтверждался и в нашей работе: в экспериментальных группах со СГ менее 30 недель и СГ 31 – 34 недели в 100% случаев отмечалось течение неонатальной пневмонии, а у преждевременно рожденных младенцев на СГ 35-37 недель – у 65,2% (15 детей). Наше мнение совпадает с данными других авторов об обоснованности применения препаратов интерферона человека в раннем неонатальном периоде у недоношенных детей с цитомегаловирусной инфекцией [6, 7].

Согласно И.В.Давыдовскому [2], имеется 3 типа реагирования возбудителя с организмом:

1 тип – инфицирование: возбудитель есть, а заболевания нет. У матери есть очаги инфекции, а ребенок рождается здоровым. Угроза реализации инфекции остается в течение 5-7-10 дней.

2 тип – начинается взаимодействие возбудителя с организмом. Возникает реакция организма на размножение возбудителя. Все элементы гомеостаза направлены на борьбу с возбудителем, заболевания нет, но реакция организма есть. Диагноз инфекции не ставится, так как нет клиники заболевания.

3 тип – возникает инфекционная болезнь, которая фигурирует в диагнозе: внутриутробный омфалит, внутриутробная пневмония, внутриутробный сепсис и др.

Таким образом, для недоношенных детей, инфицированных ЦМВ, характерен 2 тип взаимодействия микро- и макроорганизма по И.В.Давыдовскому. Следовательно, эта группа детей нуждается в пристальном внимании и проведении исследования на маркеры ЦМВ и показатели иммунитета.

Выводы:

1. Чем меньше срок гестации, тем сильнее снижены показатели иммунного статуса. В группе детей, рожденных на сроке гестации менее 32 недель, число CD3+ уменьшено на 13,5%, CD4+ - на 10,4%, CD8+ - на 24,4%, CD25+ - на 23,5%, а соотношение CD4+/CD8+ - увеличено на 36%. У более зрелых младенцев данные приближаются к контролю.
2. Цитомегаловирус усиливает состояние иммунодефицита. Для цитомегаловирусной инфекции у недоношенных детей характерен 2 тип взаимодействия микро- и макроорганизма.
3. Дефицит иммуноглобулина А обусловлен не только незрелостью недоношенного ребенка, но и непосредственным действием вируса на поджелудочную железу.

Литература

1. Ахметова Е.С. Диагностическое значение цитокинов и роль хронического эндометрита при пролиферативных заболеваниях эндометрия/ Е.С.Ахметова // Забайкальский медицинский вестник – 2010. - №2. – С. 15-17.

2. Ахмина М.И. Антенатальное формирование здоровья детей. М. : Медицина, 2005. – 208 с.
3. Боровиков В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. / В.Боровиков. СПб.: Питер, 2001. – 656 с.
4. Голубева М.В. Роль врожденной цитомегаловирусной инфекции в нарушении механизмов иммунной адаптации / М.В. Голубева, Л.Ю. Барычева, Э.Ю. Огузова // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2008. - №3. – С. 15-19.
5. Кузьменко Л.Г. Оценка величины вилочковой железы у детей первых двух лет жизни по данным ультразвукового сканирования / Л.Г.Кузьменко // Педиатрия. – 2002. – № 6. – С. 22 - 26.
6. Малиновская В.В. Интерфероновый статус недоношенных новорожденных детей с клиническими признаками внутриутробной инфекции и его коррекция препаратом рекомбинантного интерферона (вифероном) / В.В.Малиновская, Т.В.Гусева, О.В.Паршина// Рос.аллергологический журнал. – 2008 . - №6. – С. 74-81.
7. Павлова М.В. Алгоритм лабораторной диагностики врожденной цитомегаловирусной инфекции у недоношенных детей и влияние терапии вифероном на течение внутриутробных инфекций / М.В. Павлова, Е.Н. Федорова, З.С. Гаджиева // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2009. – Т. 88, №2. – С. 55-62.
8. Петренко М.В. Состояние вилочковой железы у детей раннего возраста с внутриутробной инфекцией / М.В. Петренко // Вестник РГМУ. – 2005. – № 3 (42). – С.133 - 134.
9. Проблемы клинической и эпидемиологической диагностики врожденной цитомегаловирусной инфекции / Л.В. Лялина [и др.] // Эфферентная терапия. – 2010 - Т. 16 - № 4 - С. 89-93.
10. Результаты многолетних исследований распространенности вирусов группы герпеса среди детского населения Нижнего Новгорода / М.А. Махова [и др.] // Медицинский альманах. – 2011. - №4. – С. 48-49.
11. Юнкеров В.И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований/ В.И. Юнкеров, С.Г.Григорьев – СПб.: Изд-во ВМедА, 2002. – 266 с.
12. Cantey J.B. Overview of congenital infections: the prominence of cytomegalovirus / J.B. Cantey //Infect.Disord. Drug Targets. – 2011. - Vol. 11, №5. – P. 426-431.
13. Congenital cytomegalovirus infection: current strategies and future perspectives. /Buonsenso D. [et al] //Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. - 2012. – Vol. 16, №7. - P. 919-935.
14. Ivanov I.Psychomotor development after ganciclovir selectively treated congenital and perinatal cytomegalovirus infection / I. Ivanov, N.T Popov, R.I. Moshe //Folia Med. (Plovdiv) – 2012. – Vol. 54, №4. - :P. 37-44.
15. Kosugil. Cytomegalovirus (CMV) / I. Kosugi // Uirusu. – 2010. – Vol. 60, №2. – P.209-220.
16. Nigro G. Maternal-fetal cytomegalovirus infection: from diagnosis to therapy / G. Nigro // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. – 2009. Vol. 22, №2. – P. 169-174.
17. Swanson E.C. Congenital cytomegalovirus infection: new prospects for prevention and therapy/ E.C Swanson, M.R. Schleiss //Pediatr. Clin. North Am. – 2013. –Vol. 60, №2. – P. 335-349.
18. Tolan R.W. Editorial: cytomegalovirus infection in the fetus, infant, child, and adolescent: an overview of virus genetics and pathogenesis, disease burden, prevention, diagnosis, treatment, antiviral resistance, and drug targets // Infect. Disord. Drug Targets. – 2011. – Vol. 11, №5. – P. 424-425.
19. Yamamoto A.Y. Congenital cytomegalovirus infection as a cause of sensor neural hearing loss in a highly immune population / A.Y. Yamamoto // Pediatr. Infect. Dis. J. – 2011. – Vol.30, №12. – P. 1043-1046.