

УДК: 616.921.5: 616-036

Миromanова Н.А., Жамсуева Д.Р.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЯЖЕСТИ ТЕЧЕНИЯ ГРИППА А H1N1/V У ДЕТЕЙ

ГБОУ ВПО Читинская государственная медицинская академия

Резюме. Проведено обследование 114 детей с гриппом АH1N1/v. В многофакторную регрессионную модель включалось 87 показателей (клинических, лабораторных, инструментальных), определенных у всех больных. Независимыми прогностически неблагоприятными критериями тяжелого течения гриппа АH1N1/v является повышение содержания в сыворотке крови металлопротеазы-9 (MMP-9), аспаратамино-трансферазы, интерлейкина-1 β (IL-1 β), фактора Виллибранда (vWF) и фактора некроза опухолей (TNF α).

Ключевые слова: грипп, прогноз, дети.

Miromanova N.A., Ghamseyeva D.R.

FORECASTING OF GRAVITY OF A CURRENT OF AINFLUENZA A H1N1/V AT CHILDREN

Summary. Inspection of 114 children with influenza A H1N1/v is spent. In multifactorial regression model 87 indicators (clinical, laboratory, tool), defined at all patients joined. Independent prognostically adverse criteria of a serious current of influenza A H1N1/v is maintenance rising in blood serum metalloproteinase-9 (MMP-9), aspartate aminotransferases, interleukin-1 β (IL-1 β), von Willebrand factor (vWF) and the factor of a necrosis of tumours (TNF α).

Keywords: influenza, the forecast, children.

Введение. Несмотря на значительные успехи современной медицины, грипп остается практически неконтролируемой глобальной инфекцией, наносящей колоссальный социально-экономический эффект [3,6]. Генетическая способность вирусов гриппа к антигенной изменчивости обуславливает высокую восприимчивость населения и основные эпидемиологические особенности этой инфекции в виде повсеместного распространения, вовлечения в эпидемический процесс всех возрастных групп с формированием крупных эпидемий и пандемий [7]. Пандемии гриппа развиваются примерно 3 раза в столетие, унося жизни до 20% населения земного шара [3]. Крупные эпидемии и пандемии гриппа, начиная с 1889 года, ассоциировались с вирусами гриппа АH1N1, А H2N2 и А H3N2. Так, в двадцатом веке зарегистрированы три значимые пандемии: в 1918 году, обусловленная серотипом вируса гриппа АH1N1 («испанка»), в 1957 году – А H2N2 («азиатский грипп») и в 1968 году -А H3N2 («гонгконгский грипп»). Начало 21-го века ознаменовалось появлением нового вируса гриппа АH1N1/ Калифорния/04/09, впервые выделенного от заболевших в конце марта – апреле 2009 года в Калифорнии и Мексике, впоследствии быстро распространившегося на другие штаты США, а затем и на все континенты земного шара [9]. Одним из первых регионов Российской Федерации, встретившихся с пандемическим вирусом гриппа, стал Забайкальский край. Отличительной особенностью данной эпидемии стало вовлечение в эпидемический процесс всех возрастных групп населения, в том числе и детей, но с избирательной тяжестью и высокой летальностью среди лиц молодого возраста, имеющих ожирение, сопутствующие заболевания сердечно-сосудистой и бронхолегочной систем.

В настоящее время общепринятыми критериями определения тяжести гриппозной инфекции в детском возрасте является выраженность симптомов интоксикации, степень поражения респираторного тракта и вовлечение в патологический процесс других органов и систем (нервная, сердечно-сосудистая и пр.) [8]. Как правило, существующие классификации гриппа содержат исключительно клинические критерии, часть из которых носит субъективный характер, тем самым затрудняя объективную оценку степени тяжести течения инфекционного процесса. В связи с вышесказанным, определенный интерес представляет поиск расширенных клинико-лабораторных критериев для объективной оценки тяжести течения гриппа у детей.

Целью исследования явилось выявление прогностических критериев тяжести течения гриппа А Н1N1/у детей.

Материалы и методы. В исследование включены 114 детей с неосложненным течением гриппа АН1N1/у, проходивших стационарное лечение в ГУЗ «Краевая клиническая инфекционная больница» в эпидемический сезон октябрь-декабрь 2009 года. В работе с обследуемыми лицами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2008 - поправки) и Правилами клинической практики в Российской Федерации", утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Диагноз гриппа А Н1N1/у устанавливался на основании эпидемиологического анамнеза, комплекса характерных клинических симптомов и верифицировался путем обнаружения РНК вируса в назофарингеальных мазках методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и/или с помощью реакции торможения гемагглютинации (РТГА) в парных сыворотках с нарастанием титра антител. Распределение исследуемых по группам, полу и возрасту представлены в табл. 1.

Таблица 1

Распределение больных по группам, полу и возрасту

Группы обследуемых	n	Возраст, мес.	Пол (абс.ч./ %)	
			Мальчики	Девочки
Грипп АН1N1/у легкой степени тяжести	40	38,5±8,7	27 (67,5%)	13 (32,5%)
Грипп А Н1N1/у средней степени тяжести	56	56,5±8,7	29 (51,8%)	27 (48,2%)
Грипп А Н1N1/у тяжелой степени тяжести	18	59,3±8,2	7 (38,9%)	11 (61,1%)

Для определения тяжести течения гриппа А Н1N1/у пользовались общепринятой классификацией гриппа [8].

Статистическая обработка данных проводилась при помощи пакета прикладных программ STATISTICA 6.1. Количественные показатели выражали в виде среднего значения (M) и стандартного отклонения (SD). Предсказания значений ряда зависимых переменных по известным значениям других переменных осуществлялось с помощью множественного регрессионного анализа [5].

Связь данных анамнеза, клинических показателей, результатов лабораторного и инструментального обследования с тяжестью течения гриппа А Н1N1/у у детей оценивалась в регрессионной модели, включающей 87 показателей. В оцениваемые показатели анамнеза включали указания на контакт с больным гриппом, факт предшествующей противовирусной терапии, сроки госпитализации от манифестации заболевания, наличие преморбидных состояний у детей раннего возраста (анемия, паратрофия, гипотрофия, тимомегалия и прочие), организованность детей. Клинику гриппа анализировали по следующим параметрам: степень

повышения температуры тела и длительность температурной реакции, топика поражения респираторного тракта, вовлечение в патологический процесс других органов и систем, наличие признаков инфекционного токсикоза, нарушение сознания и др. Витальные функции оценивались по частоте дыхательных движений (ЧД) и сердечно-сосудистых сокращений (ЧСС), величине систолического (САД) и диастолического артериального давления (ДАД), диурезу, показателям сатурации крови кислородом (SpO_2). Лабораторная составляющая в регрессионной модели включала традиционные показатели общеклинического исследования периферической крови, биохимические параметры (аспартатаминотрансфераза – АСТ, лактатдегидрогеназа – ЛДГ, С-реактивный белок), коагулограммы, а также исследования уровней про- и противовоспалительных цитокинов (IL1 β , ФНО α , IL-4, IL-10, IL-18, TGF1 β), металлопротеаз (ММР-2, ММР-9), показателей дисфункции эндотелия (фактор Виллибранда, метаболиты оксида азота, эндотелин), коллагенолитической, про- и антиоксидантной активности сыворотки крови. Кроме того, регрессионная модель охватывала данные о наличии полиморфизма в генах цитокинов (ФНО α , IL-4, IL-17, IL-10), а также в генах эндотелина, эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) и молекулы дифференциации моноцитов CD14.

Результаты исследования и их обсуждение. Нами установлено, что у детей грипп А H1N1/v чаще протекал в легких (35,1%) и среднетяжелых формах (49,1%). Тяжелые формы инфекции зарегистрированы у 15,8% из числа наблюдаемых нами больных. Причем треть детей (33,3%) с тяжелым течением гриппа соответствовали критериям синдрома системной воспалительной реакции (ССВР), предложенные экспертами Международной согласительной конференции по педиатрическому сепсису (2005) [10]. Все больные получали стандартную терапию в соответствии с методическими рекомендациями Министерства здравоохранения и социального развития РФ.

В группе с легким течением пандемического гриппа большинство больных составили дети в возрасте до пяти лет (82,5%). Контакт с больными, имеющие гриппоподобные симптомы, отмечен у 40% детей данной группы. В большинстве случаев наблюдались так называемые, «домашние» контакты, так как всего 9,7% детей данной группы были организованы в детские коллективы. Из фоновых состояний дети раннего возраста имели избыток массы тела (12,5%), анемию легкой степени (12,5%), рахит (5%), перинатальное поражение центральной нервной системы – ППЦНС (25%), сочетание преморбидных состояний (7,5%). Чаще больные поступали в стационар в первые двое суток от начала болезни. Поздняя госпитализация (на 3 сутки и позже) отмечена в 22,5% случаев. При поступлении больные имели характерную клиническую симптоматику острого респираторного заболевания: острое начало заболевания с манифестацией в виде повышения температуры тела от 37 до 38,5 $^{\circ}$ C, появление вялости, изменение поведения, отказ от еды. Учитывая ранний возраст больных, такие симптомы заболевания, как головная боль, миалгии, боли в глазных яблоках регистрировались в единичных случаях исключительно у детей старших возрастных групп. Длительность интоксикации составила 2,3 \pm 0,9 дней. Поражение респираторного тракта у детей при легком течении гриппа характеризовалось чаще клиникой бронхита (85%), проявляясь сухим кашлем и наличием при аускультации единичных сухих хрипов по передней поверхности грудной стенки. Симптоматика обструктивного бронхита без признаков дыхательной недостаточности наблюдалась у одного ребенка. Длительность кашля у детей этой группы составила 5 дней. В двух случаях кашель у детей отсутствовал. В 77,5% случаев наряду с поражением респираторного тракта у детей наблюдалась диарея. Тахикардия и тахипноэ, регистрируемые при поступлении детей данной группы в стационар, носили компенсаторный харак-

тер и соответствовали степени повышения температуры тела. Геморрагический синдром, а также признаки инфекционного токсикоза в этой группе пациентов не регистрировались. Гемограмма у детей этой группы в возрасте от 1 месяца до 5 лет характеризовалась нормальным количеством лейкоцитов ($9,1 \pm 2,7 \times 10^9/\text{л}$), умеренным относительным нейтрофилезом (палочкоядерные нейтрофилы – $4,9 \pm 3,8\%$, сегментоядерные нейтрофилы – $43,9 \pm 13,5\%$). Лейкопения ($4,2 \times 10^9/\text{л}$) наблюдалась у одного ребенка. Показатели тромбоцитов, гемоглобина, СОЭ, а также АСТ, ЛДГ соответствовали возрастной норме. Исследования на С-реактивный белок, а также тест на прокальцитонин у детей при легком течении гриппа А H1N1/v были отрицательными. Заболевание у детей с легким течением гриппа протекало гладко, длительность лечения в стационаре составила в среднем $9,7 \pm 4,2$ дней.

Дети при среднетяжелом течении гриппа имели более манифестную и характерную клиническую симптоматику заболевания. Большинство из наблюдаемых больных этой группы составляли дети в возрасте до пяти лет ($89,3\%$). Хотя дети со среднетяжелым течением болезни имели более отчетливую симптоматику, по сравнению с пациентами при легком течении гриппа, поздняя госпитализация (3 суток и позднее) наблюдалась практически в половине случаев ($42,8\%$). Повышение температуры тела у детей данной группы регистрировалось в интервале от $38,5$ до $39,5^\circ\text{C}$ с длительностью температурной реакции $2,7 \pm 1,2$ дня. В целом, симптомы интоксикации у детей со среднетяжелым течением гриппа были более яркими. В трех случаях зафиксированы кратковременные эпизоды судорог на высоте температуры, которые у одного ребенка сопровождались галлюцинациями. При этом неврологическая и менингеальная симптоматика у детей отсутствовала, а кратковременные явления галлюцинаций и судорог, позволяли расценивать данные симптомы как проявления специфического инфекционного токсикоза. У $19,6\%$ детей интоксикация сопровождалась выраженной бледностью кожных покровов с их «мраморностью». Поражение респираторного тракта характеризовалось клиникой обструктивного бронхита у $16,1\%$ детей, сопровождающегося явлениями компенсаторной дыхательной недостаточности. У шести детей наблюдалась симптоматика ларинготрахеита, причем у четырех из них протекая с явлениями стеноза гортани 1 степени. Показатели SpO_2 у детей, имеющих проявления дыхательной недостаточности, не выходили за пределы нормальных показателей ($96,6 \pm 1,6\%$). В целом, клинические проявления бронхита отмечены у $85,7\%$ детей. Сухой кашель наблюдался у $80,3\%$ детей с длительностью $6,7 \pm 2,5$ дней. В двух случаях кашель у детей не регистрировался. Кратковременная диарея отмечена у $44,6\%$ пациентов, в основном среди детей раннего возраста. В среднем, гемограмма у больных этой группы соответствовала нормальным возрастным показателям. Лейкопения у больных со среднетяжелым течением гриппа наблюдалась в $23,2\%$ случаях ($4,6 \pm 0,5 \times 10^9/\text{л}$). Показатели С-реактивного белка превышали контрольные значения у 7 детей, а уровень АСТ превышал показатели контроля в 1,7 раза. Длительность стационарного лечения у пациентов данной группы составила в среднем $8,3 \pm 3,2$ дня.

Тяжелое течение гриппа А H1N1/v характеризовалось у детей выраженной интоксикацией, тяжелым поражением респираторного тракта и наличием геморрагического синдрома. Температура у детей этой группы фиксировалась на значениях $39,5^\circ\text{C}$ и выше, сопровождаемая выраженной вялостью, адинамией, отказом от еды. Длительность температурной реакции составила в среднем при тяжелом гриппе $4,6 \pm 1,4$ дня. Дети старшего возраста предъявляли жалобы на выраженную головную боль, боли в мышцах, ломоту в теле, повторную рвоту. В двух случаях у детей отмечались признаки нарушения сознания (у одного ребенка – кома 1 степени, у второго ребенка – сопор), сопровождаемая наличием положительных менин-

геальных симптомов. Судорожный синдром наблюдался в четырех случаях. Судороги носили генерализованный тонико-клонический характер, чаще являясь кратковременными и возникая на высоте температурной реакции. Лишь у одного ребенка энцефалитическая реакция при отсутствии изменений в ликворе сопровождалась повторными приступами судорог. Поражение респираторного тракта сопровождалось симптомами трахеобронхита, стенозирующим ларинготрахеитом с явлениями стеноза гортани 2 степени. Длительность кашля в этой группе составила $11,8 \pm 2,9$ дней. Явления фарингита, ринита регистрировались у всех больных. Диарея наблюдалась реже (11,1%), чем у пациентов с нетяжелыми формами течения инфекции. Признаки компенсированного инфекционного токсикоза наблюдались в 94,4% случаев, субкомпенсированного – 5,6%. Геморрагический синдром отмечался в 11,1% случаев, проявляясь геморрагической сыпью, носовыми кровотечениями, изменениями показателей коагулограммы (гиперкоагуляция) и тромбоцитопенией. У трети детей (33,3%) тяжелое течение гриппа соответствовало критериям ССВР, сопровождаясь помимо высокой температуры тела, лейкопенией у трех детей, лейкоцитозом – в трех случаях, а также тахикардией, повышением САД и увеличением показателей С-реактивного белка ($7,5 \pm 5,7$ г/л). Показатели АСТ у детей с тяжелым течением гриппа составили $80,8 \pm 21$ Ед. В целом, тяжелые формы у детей протекали гладко с постепенным регрессом имеющейся клинической симптоматики. Длительность стационарного лечения у пациентов данной группы составила в среднем $9,7 \pm 1,9$ дней. Летальные случаи среди наблюдаемых нами детей с тяжелым гриппом не регистрировались.

Результаты многофакторного пошагового регрессионного анализа показали, что наиболее близко связанным с тяжестью течения пандемического гриппа у пациентов детского возраста оказался уровень MMP-9 (шаг 1). Точность предсказания увеличивалась при добавлении данных о содержании в сыворотке крови АСТ (шаг 2), концентрации провоспалительного цитокина IL-1 β (шаг 3), фактора Виллибранда (шаг 4) и провоспалительного цитокина TNF α (шаг 5). При добавлении других показателей в дополнение к уже отобраным, нарастания значимой прогностической мощности не отмечалось (табл. 2).

Таблица 2

Прогностическое значение показателей в многофакторной модели тяжести течения гриппа А Н1N1/v у детей

Показатель	β^*	Относительный риск [95% доверительный интервал]	P-level **
MMP-9	$0,7 \pm 0,05$	79,56 [4,41; 19,38]	0,0000001
АСТ	$0,07 \pm 0,02$	5,93 [2,78; 6,89]	0,002
IL-1 β	$0,05 \pm 0,02$	3,46 [1,67; 5,07]	0,02
vWF	$0,09 \pm 0,03$	5,08 [2,54; 6,3]	0,01
TNF α	$0,07 \pm 0,03$	5,4 [2,73; 6,44]	0,03

Примечание: *beta – регрессионный коэффициент;

** – уровень статистической значимости.

При анализе данной прогностической модели значение множественного коэффициента корреляции составило 0,997, что говорит о значительной линейной зависимости между факторами влияния и откликом (тяжестью течения гриппа). Коэффициент детерминации (R-квадрат) – 0,994, говорит о высокой степени соответствия регрессионной модели эмпирическим данным. Учтенных факторов влияния на тяжесть течения гриппа А Н1N1/v ограниченное количество – пять, соответственно нормированный коэффициент детерминации практи-

чески не отличается от исходного 0,993. Данный факт также позволяет утверждать, что степень соответствия регрессии реальному процессу значительна [5].

Уровень значимости регрессионной модели $p < 0,0000001$, что еще раз свидетельствует о высокой чувствительности и достоверности данной математической модели.

При расчете относительного риска (ОР) исследуемых показателей выявлено, что наиболее высокий риск развития пандемического гриппа в детском возрасте связан с MMP-9 (ОР=79,56 [4,41; 19,38]) и при высоком уровне данного параметра увеличивается риск тяжелого течения гриппа А H1N1/v у детей в 79,6 раз, а при повышенном содержании в сыворотке крови АСТ, IL-1 β , vWF, TNF α – в 6, 3,5, 5 и 5,4 раз, соответственно. Определение MMP-9 явилось наиболее значимым критерием в диагностике тяжести течения пандемического гриппа у детей, так как вероятность положительного результата прогноза (чувствительность) составила 99,44%, вероятность отрицательного прогноза (специфичность) – 98,75%, относительная частота принятия безошибочных решений (безошибочность) – 98,97%, а ложноотрицательный и ложноположительный ответ составили 0,56% и 1,25% соответственно.

Таким образом, определение MMP-9 при пандемическом гриппе у детей может служить прогностическим критерием тяжести его течения. Матриксные металлопротеазы (MMP) представляют собой группу родственных по структуре цинкзависимых эндопептидаз, участвующих в деградации базальной мембраны и внеклеточного матрикса. Они секретируются в неактивной форме в межклеточное пространство, где активируются под действием других протеаз и принимают участие в тканевой перестройке. MMP – единственные протеолитические ферменты, способные денатурировать фибриллярные коллагены. В состав MMP входит 28 ферментов, которые делятся на пять подсемейств: коллагеназы (MMP-1, MMP-8, MMP-13), стромализины (MMP-3, MMP-10), матрилизины (MMP-7, MMP-26) и желатиназы (MMP-2, MMP-9). К соединениям, образуемым эндотелиальными клетками, относятся коллагеназы, стромализины и желатиназы, секретирующиеся в физиологических условиях в межклеточное пространство и разрушающие фибриллярные коллагены, фибронектин и другие белки внеклеточного матрикса [2]. Кроме того, MMP экспрессируются в мышечных клетках и фибробластах [4]. Установлено, что MMP-2, в отличие от MMP-9, экспрессируется в поврежденных артериях, благодаря чему является одним из маркеров воспаления [1]. Содержание MMP в физиологических условиях регулируется содержанием специфических тканевых ингибиторов матриксных металлопротеаз (ММРТИ), представляющие собой небольшие белки, вступающие во взаимодействие с MMP в соотношении 1:1. Но ММРТИ могут инактивироваться действием протеолитических ферментов – трипсина, хемотрипсина, эластазы нейтрофилов, благодаря чему значительно возрастает активность различных MMP [11]. Проведенные исследования показали, что при заболеваниях сердечно-сосудистой системы в сыворотке крови нарушается нормальное соотношение MMP и ММРТИ, приводящее к развитию фиброза [1, 2]. Превышение показателей MMP-9 у детей с тяжелым течением гриппа могут объяснить с одной стороны, интенсивность воспалительной реакции, характерной для более тяжелых форма гриппа, а с другой стороны, уже на этой стадии патологического процесса может стать значимым фактором риска развития фиброза легочной ткани. Повышение уровня IL-1 β и TNF α при тяжелых формах гриппозной инфекции обуславливает развитие «циткинового шторма», являющегося пусковым механизмом развития системной воспалительной реакции, а высокие показатели vWF подтверждают наличие дисфункции эндотелия в патогенезе тяжелых форм гриппа АН1N1/v у детей.

Выводы:

1. Тяжесть течения гриппа А H1N1/v у детей в наибольшей степени определяется содержанием в сыворотке крови ММР-9, АСТ, IL-1 β , vWF и TNF α .
2. Определение ММР-9 может служить точным прогностическим критерием тяжести течения пандемического гриппа у детей.

Литература

1. Бобкова И.Н. Роль матричных металлопротеиназ в патогенезе заболеваний почек / И.Н. Бобкова, Л.В. Козловская, О.А. Ли // Терапевтический архив, 2008. – №6. – С. 86-90.
2. Гасанов А.Г. Роль изменений внеклеточного матрикса при возникновении сердечно-сосудистых заболеваний / А.Г. Гасанов, Т.В. Бершова // Биомедицинская химия. – 2009. – Т.55. – С. 155-167.
3. Грипп как проблема XXI века / Л.В. Осидак [и др.] // Детские инфекции. – 2009. – №3. – С. 3-9.
4. Кузник Б.И. Клеточные и молекулярные механизмы регуляции системы гемостаза в норме и патологии / Б.И. Кузник. – Чита : Экспресс-издательство, 2010. – 832с.
5. Михалевич И.М. Регрессионный анализ (использование в медицинских исследованиях с применением ППП Statistica) : пособие для врачей / И.М. Михалевич. – Иркутск : РИО ГБОУ ДПО ИГМАПО, 2012. – 32 с.
6. Онищенко Г.Г. Эпидемическая ситуация по гриппу, вызванному высокопатогенным вирусом типа А H1N1 в Российской Федерации и в мире / Г.Г. Онищенко // Журнал микробиологии. – 2010.– №1.– С.3-10.
7. Распространение нового пандемического вируса гриппа А H1N1v в России / Д.К. Львов [и др.] // Вопросы вирусологии. – 2010. – №3. – С.4-9.
8. Учайкин В.Ф. Диагностика, лечение и профилактика гриппа и острых респираторных инфекций у детей / В.Ф. Учайкин. – Москва, 2001.– 16с.
9. Garten R.J. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A H1N1 influenza viruses circulated in humans // Science Express Index. - May 22. – 2009. – V. 10. – P. 11-26.
10. Goldstein B. International pediatric sepsis consensus conference : Definitions for sepsis and organ dysfunction in pediatrics /B. Goldstein, B. Giroir, A. Randolph // Pediatr. Crit. Care Med. – 2005. – №6. – P. 2-8.
11. Polymorphism in matrix metalloproteinases-1, 2, 3 and 12 genes in relation to subarachnoid hemorrhage / B. Zhang [et al.] // Stroke. – 2001. – V.32. – P. 1198-1202.