

УДК:612.017.1:616.9-053.31(043.2)

ИММУННЫЙ ОТВЕТ В РАЗВИТИИ ВНУТРИУТРОБНЫХ ИНФЕКЦИЙ У НОВОРОЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ

Абдукадирова М.К.¹, Камалов З.С.², Рахманкулова З.Ж.¹

¹Ташкентский педиатрический медицинский институт,

²Институт иммунологии и геномики человека АН РУз

ХУЛОСА

Тадқиқотнинг мақсади. Герпесвирус инфекциялари бўлган янги туғилган чақалоқларда яллиғланишига хос цитокинлар маҳсулоти хусусиятларини аниқлаш.

Материаллар ва усуллар. Герпесвирус инфекциялари бўлган янги туғилган чақалоқларда яллиғланишига хос цитокинлар (ИЛ-1 β , ИЛ-6 ва ФНО- α) миқдорлари аниқланди ва таҳлил қилинди. ИЛ-1 β , ИЛ-6 ва ФНО- α цитокинлар миқдорини қаттиқ фазада иммуноферментли таҳлил усули билан «ВЕКТОР-БЕСТ» АЖ (Россия, Новосибирск) тест-тизимларидан фойдаланиш орқали аниқланди.

Олинган натижалар. Ҳомила учра инфекция (ҲИИ) диагноз билан 78 нафар янги туғилган чақалоқларда киндик ва периферик қон зардобда иммунологик тадқиқотлар ўтказилди. Назорат гуруҳини 30 нафар соғлом туғилган чақалоқлар ташкил этди. Тадқиқотлар натижасида яллиғланишига хос цитокинлар миқдорларининг қиёсий таҳлили ҲИИ турига қараб иммуний жавоб медиаторларининг гиперсекрецияси аниқланди.

Калим сўзлар: янги туғилган чақалоқлар, ҳомила учра инфекциялар, цитокинлар, иммунитет.

Врожденная герпетическая инфекция характеризуется склонностью к генерализации, трудностью диагностики, прогнозирования течения и высокой частотой инвалидизации [4]. Учитывая то, что в реализации инфекционного процесса ведущая роль отводится состоянию защитных сил организма, важным аспектом является изучение иммунного ответа новорожденных при генерализованной герпетической инфекции [3].

По данным некоторых исследователей при повышенном содержании материнских провоспалительных цитокинов, последние проникают через плацентарный барьер и стимулируют воспалительные реакции и активацию иммунной системы у плода, что может привести к повреждению многих органов и систем с негативными последствиями для развития плода [9,11].

SUMMARY

The aim of the study. To study the features of pro-inflammatory cytokine production in newborn infants with herpes virus infections.

Materials and methods. Levels of proinflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, and TNF- α) in newborn infants with herpes virus infections were studied and analyzed. The concentration of IL-1 β , IL-6 and TNF- α was determined by enzyme-linked immunosorbent assay using test systems of JSC VECTOR-BEST (Russia, Novosibirsk).

Results. An immunological study was conducted in umbilical cord and peripheral blood serum of 78 newborns diagnosed with congenital intrauterine infection (IUI). The control group consisted of 30 apparently healthy full-term newborns. As a result of a comparative analysis of the levels of proinflammatory cytokines depending on the type of IUI, hypersecretion of the studied mediators of the immune response was established.

Keywords: newborns, intrauterine infections, cytokines, immunity.

Цитокиновая регуляция иммунного ответа при герпесвирусной инфекции является сложным многокомпонентным процессом, обеспечивающим поддержание баланса между стимуляторами и ингибиторами как врожденного, так и адаптивного иммунитета [12]. Поддержание иммунного гомеостаза новорожденного обеспечивается комплексом механизмов обратной связи и увеличением концентрации противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови. Баланс про- и противовоспалительных цитокинов может являться ключевым моментом, обуславливающим не только клиническое состояние ребенка, но и определять дальнейшую тактику ведения новорожденного [10].

Нарушение баланса про- и противовоспалительных цитокинов, необходимых для формирования адекватного адаптивного иммунитета и системных механизмов врожденного иммунитета, может при-

вести к значительной локальной активации воспалительного процесса, а также способствовать развитию тяжелых генерализованных форм заболевания, хронизации процесса, наступлению летального исхода и инвалидизации детей [1, 3].

Известно, что иммунная система новорожденных формируется на последних стадиях внутриутробного развития и в первые месяцы жизни ребенка, поэтому иммунная система здорового ребенка значительно отличается от иммунной системы взрослого человека. Любой дестабилизирующий эффект, который приводит к аномалиям во время беременности, сокращению беременности, гипотрофии и гипоксии, приводит к задержке в развитии иммунной системы детей и дефициту защитных факторов, что, в свою очередь, увеличивает риск соматических, иммунных и неврологических расстройств новорожденных, а также состояние здоровья ребенка в более поздние годы жизни [2].

Вне всякого сомнения, иммунологическая связь родильницы и плода складывается в рамках единой функциональной системы мать-плацента-плод. Отступление от нормальных взаимоотношений в этой системе является центральным составляющим звеном патогенеза разного рода патологий, как матери, так и плода, и в большей степени определяет течение перинатального периода [1]. Многие инфекционно-воспалительные заболевания во время беременности имеют общие черты и обычно инфицирование плода и новорожденного может быть вызвано как острой инфекцией матери, так и активацией хронической инфекции во время беременности. Такая активация хронической инфекции возникает при любом нарушении гомеостаза в организме беременной, что часто наблюдается при анемии, ревматизме, диабете, бронхиальной астме и др. [8].

Во время беременности плод развивается практически в стерильных условиях. После рождения патогенные микроорганизмы, с которыми ребенок до сих пор не встречался, вызывают развитие соответствующей инфекционной болезни. Каждый новый контакт с патогеном приводит к расширению иммунологической памяти ребенка и формирует продолжительный иммунитет [9].

Иммунная система, будучи интегративной, определяет выживаемость младенца и является одним из наиболее отзывчивых и регулирующих функций систем гомеостаза в развитии патологических процессов и особенно в постнатальной адаптации [4,5].

В этой связи, целью настоящего исследования явилось изучение вклада иммунологического ответа при врожденных внутриутробных инфекциях у недоношенных новорожденных детей в сравнении со здоровыми доношенными детьми.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящее исследование были включены 78 новорожденных младенцев с установленным диагнозом ВУИ. Согласно поставленной цели все обследо-

ванные новорожденные были разделены на 3 группы: 1-я группа – 27 детей с вирусом простого герпеса 1 и 2 типа (ВПГ), 2-я группа – 16 новорожденных с цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВ), 3-ю группу составили 35 новорожденных с сочетанной ВПГ+ЦМВ инфекцией. Контрольную группу составили 30 практически здоровых доношенных новорожденных.

Иммунологические исследования у обследованных детей проводились в лаборатории иммунорегуляции Института иммунологии и геномики человека АН РУз. Были изучены и проанализированы уровни провоспалительных цитокинов интерлейкина-1бета, интерлейкина-6 и фактора некроза опухолей-альфа (ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α) в сыворотке пуповинной крови и в динамике, на первой неделе жизни, в сыворотке периферической крови у больных и здоровых новорожденных в сравнительном аспекте.

Концентрацию ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем АО «ВЕКТОР-БЕСТ» (Россия, Новосибирск). Количественную оценку результатов проводили методом построения калибровочной кривой или с использованием коммерческой компьютерной программы «Microplatemanager», отражающих зависимость оптической плотности от концентрации для стандартного антигена и позволяющих сравнение с ним исследуемых образцов.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием компьютерной программы Statistica 6.0. Достоверность различий средних величин сравниваемых показателей оценивали по критерию Стьюдента (t).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Все новорожденные дети с внутриутробными инфекциями, находившиеся под нашим наблюдением были недоношенными. При этом, средний гестационный возраст у детей 1-й группы с ВПГ составил $31,5 \pm 0,4$ недель, во 2-й группе с ЦМВ составил $30,5 \pm 0,4$ недель, в 3-й группе детей с сочетанными инфекциями ЦМВ+ВПГ – $30,5 \pm 0,4$ недель, а в контрольной группе – $37,5 \pm 0,4$. Общее состояние новорожденных детей основной группы при рождении было тяжелым.

Так, дети с ЦМВ имели оценки по шкале Апгар на 1-й минуте – $4,4 \pm 0,1$ баллов, на 5-й минуте – $6,7 \pm 0,3$ балла, у детей с ВПГ – на 1-й минуте – $3,8 \pm 0,1$ балла, на 5-й – $5,7 \pm 0,3$ балла. Дети с сочетанными ЦМВ+ВПГ инфекциями родились в более тяжелом состоянии и имели наименьшие оценки по шкале Апгар: на 1-й минуте – $2,7 \pm 0,1$ балла, на 5-й минуте – $5,2 \pm 0,3$ балла.

ИЛ-1 β – многофункциональный цитокин с широким спектром действия, играющий ключевую роль в развитии и регуляции неспецифической защиты и специфического иммунитета. Этот цитокин одним из первых включается в ответную защитную реакцию организма при действии патогенных факторов. Синтезируется и выделяется преимущественно ма-

крофагами и моноцитами. В его продукции могут принимать участие лимфоциты, фибробласты [5, 7].

Анализ полученных показателей выявил, что уровень ИЛ-1 β , полученный из сыворотки пуповинной крови у младенцев в группе с сочетанной ЦМВ+ВПГ инфекцией (3 группа), статистически значимо выше по сравнению со всеми остальными группами новорожденных с ВУИ, и существенно отличается от показателей группы здоровых младенцев.

Так, самый высокий показатель был зафиксирован в группе новорожденных с ЦМВ+ВПГ инфекцией, который в среднем составил 487,2 \pm 19,48 пг/мл против 194,7 \pm 8,17 пг/мл в контрольной группе ($P<0,001$), что оказалось в 2,5 раза больше, чем у здоровых новорожденных детей. Содержание же в группе с ВПГ составило 238,3 \pm 13,30 пг/мл ($P<0,05$) и в группе с ЦМВ в среднем - 253,5 \pm 26,19 пг/мл ($P<0,05$)

соответственно по сравнению с данными контрольных значений (табл.1.).

ИЛ-6 – это белок, который вырабатывается в различных клетках и регулирует иммунный ответ. ИЛ-6 может усиленно вырабатываться при воспалительных, инфекционных, аутоиммунных заболеваниях. Определение концентрации ИЛ-6 в крови может быть использовано как маркер активации иммунной системы. В норме ИЛ-6 в крови присутствует в незначительных количествах или не обнаруживается совсем [9].

Анализ результатов проведенных исследований показал, что уровень ИЛ-6 у младенцев всех групп был достоверно повышен, причем максимальное значение было зафиксировано в 3-й группе новорожденных с сочетанными ЦМВ+ВПГ инфекциями (табл.1.).

Таблица 1

Содержание провоспалительных цитокинов в пуповинной крови новорожденных детей с ВУИ

Показатели	Контроль, n=30	ВПГ, n=27	ЦМВ, n=16	ЦМВ+ВПГ, n=35
ИЛ-1 β , пг/мл	194,7 \pm 8,17	238,3 \pm 13,62*	253,5 \pm 26,19*	487,2 \pm 19,48*
ИЛ-6, пг/мл	12,9 \pm 0,59	27,6 \pm 1,93*	31,9 \pm 2,24*	46,3 \pm 1,54*
ФНО- α , пг/мл	17,1 \pm 0,74	43,2 \pm 2,14*	40,4 \pm 2,92*	53,1 \pm 1,47*

Примечание: *Значения достоверны по отношению к контрольной группе ($P<0,05$ - 0,001).

Так, уровень этого цитокина в 1-й группе с ВПГ был выше в 2,1 раз (27,6 \pm 1,93 пг/мл) ($P<0,001$), во 2-й группе с ЦМВ в 2,4 раза (31,9 \pm 2,24 пг/мл) ($P<0,001$), и почти в 3,6 раз (46,3 \pm 1,94 пг/мл) ($P<0,001$) был выше контрольных значений 12,9 \pm 0,59 пг/мл. Высокие показатели содержания ИЛ-6 по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы, свидетельствуют о выраженных хронических воспалительных процессах у матерей с ВУИ, что значительно влияет на состояние плода во внутриутробном периоде.

Биологические эффекты ФНО- α зависят от его концентрации. ФНО- α играет ведущую роль в противовирусном иммунитете. ФНО- α является одним из наиболее эффективных факторов, действие которого распространяется и на активацию апоптоза, что особенно значимо при вирусных инфекциях [6].

Так, сравнительный анализ выявил, что экспрессия данного медиатора в группе с сочетанной ЦМВ+ВПГ инфекцией была в 3,1 выше, со средним значением 53,1 \pm 1,47 пг/мл, по сравнению с данными контрольной группы 17,1 \pm 0,74 пг/мл ($P<0,001$). Важно отметить, что в 1-й группе у детей с ВПГ уровень ФНО- α в среднем составил 43,2 \pm 2,14 пг/мл ($P<0,001$) и это было выше в 2,5 раза ($P<0,001$), а во 2-й группе младенцев с ЦМВ в среднем 40,4 \pm 2,92 пг/мл, что было в 2,3 раза также выше контрольных значений (табл.1).

Продукция и секреция провоспалительных цитокинов относятся к самым ранним событиям при герпесвирусных инфекциях и оказывают влияние на последующий специфический иммунный ответ. Цитокины, особенно ФНО- α и, возможно, ИЛ-6, мо-

гут играть роль в устранении вируса, а также в поддержании гомеостаза нервной системы посредством репарации и защиты нейронов от повреждений [11].

Как известно, уровни провоспалительных цитокинов ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α напрямую связаны с количеством и активностью Th1 и Th2 лимфоцитов. Нами установлено, что независимо от типа инфекции во всех группах детей с ВУИ отмечалось достоверное повышение ФНО- α и ИЛ-6 и не менее выраженное повышение ИЛ-1 β . Следует отметить, что усиление синтеза провоспалительных цитокинов у обследованных детей происходило с различной интенсивностью.

Необходимо также учесть, что именно при наличии сочетанной ЦМВ+ВПГ инфекции были выявлены очень высокие показатели медиаторов воспалительного ответа, что, по-видимому, связано с одновременным воздействием нескольких антигенов на иммунную систему младенцев.

Сравнительный анализ полученных данных установил, что концентрация ИЛ-1 β в сыворотке периферической крови на первой неделе жизни достоверно выросла, по сравнению с содержанием данного медиатора в пуповинной крови. Так уровень ИЛ-1 β в 1-й группе младенцев с ВПГ в среднем вырос на 24,3% со средним показателем 314,7 \pm 23,21 пг/мл ($P<0,05$), во 2-й группе с ЦМВ на 31,3% - 369,4 \pm 22,43 пг/мл ($P<0,01$), а в 3-й группе у детей с сочетанной ЦМВ+ВПГ инфекцией синтез увеличился на 32,6%, что в среднем составило 723,5 \pm 22,80 пг/мл ($P<0,001$) (табл.2).

Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке периферической крови новорожденных детей с ВУИ

Показатели	ВПГ, n=27	ЦМВ, n=16	ЦМВ+ВПГ, n=35
ИЛ-1β, пг/мл	314,7±23,21*	369,4±22,43*	723,5±22,80*
ИЛ-6, пг/мл	38,1±2,43*	49,3±2,48*	74,8±2,88*
ФНО-α, пг/мл	56,4±2,24*	49,1±1,75*	81,2±3,66*

Примечание: *Значения достоверны по отношению к контрольной группе (P<0,05- 0,001)

Сопоставительная оценка ИЛ-6 выявила во всех группах новорожденных достоверно повышенную концентрацию, что указывает на неадекватную работу иммунной системы, которая начинает атаковать клетки собственного организма. Так, содержание ИЛ-6 в 1-й группе выросло на 27,5% со средним показателем 38,1±2,43 пг/мл против первоначальных значений 27,6±1,93 пг/мл (P<0,05), во 2-й группе на 35,3%, что в среднем составило 49,3±2,48 пг/мл против исходных 31,9±2,24 пг/мл (P<0,001), а в 3-й группе данный показатель вырос на 38,1%, где среднее содержание данного цитокина составило 74,8±2,88 пг/мл против исходных 46,3±1,94 пг/мл (P<0,001). Такие показатели, вероятно, свидетельствуют о внутриутробных тканевых повреждениях у плода и неблагоприятный перинатальный исход, что также может являться результатом избыточного синтеза ИЛ-6 (табл.2).

Сравнительный анализ полученных результатов установил, что концентрация ФНО-α достоверно возросла также во всех группах младенцев. Так содержание ФНО-α в 1-й группе новорожденных с ВПГ увеличилось на 23,4% со средним показателем 56,4±2,24 пг/мл против 43,2±2,14 пг/мл (P<0,001), во 2-й группе младенцев с ЦМВ на 17,7%, со средним значением 49,1±1,75 пг/мл против 40,4±2,92 пг/мл (P<0,05). В 3-й группе детей с сочетанной ЦМВ+ВПГ инфекцией уровень данного медиатора был выше на 34,6%, где среднее значение составило 81,2±3,66 пг/мл против 53,1±1,47 пг/мл (P<0,001) в пуповинной крови (табл.2).

Таким образом, полученные данные позволяют предположить о наличии определенной зависимости уровня продукции изученных медиаторов от характера патологического процесса у матерей с ВУИ, о чем свидетельствуют их повышенные концентрации в пуповинной крови у новорожденных. Такое повреждение иммунной системы в период раннего онтогенетического развития может привести к возникновению врожденных иммунных дефектов и являться фоном для дальнейшей репродукции вируса и развития рецидивирующих заболеваний различной локализации.

Полученные нами результаты, согласуются с установленными литературными данными, и еще раз подтверждают, что усиленная экспрессия как ИЛ-6 так и ФНО-α вместо эффективного противоинфекционного ответа, может оказать повреждающее действие на организм новорожденного ребенка.

ВЫВОДЫ

1. Основной причиной внутриутробных инфекций у новорожденных являются инфекционные заболевания у матери во время беременности или обострение их хронического носительства. Так, инфекционно-воспалительные заболевания матери во время беременности оказывают серьезное патологическое влияние на внутриутробное развитие плода и формирование иммунитета у новорожденного, что подтверждается наличием тяжелого состояния у них с первых суток жизни, особенно при сочетанных внутриутробных инфекциях.

2. Установлен выраженный дисбаланс и гиперцитокинемия, которые свидетельствуют о непосредственной связи цитокинового статуса с герпесвирусными ВУИ у новорожденных. Гиперсинтез провоспалительных цитокинов может превратиться из факторов защиты организма от инфекций в фактор агрессии, способствуя развитию деструктивных процессов и формированию полиорганной недостаточности.

3. Выявленные повышенные показатели уровней цитокинов в сыворотке пуповинной крови и далее резкий рост их, на первой неделе жизни, в периферической крови позволили проанализировать динамику изменений цитокинового профиля у новорожденных детей с внутриутробными инфекциями, что особенно выражено при сочетанных инфекциях. Полученные данные можно использовать для прогноза заболевания и эффективности проводимой терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гашимова Н. Р. и др. Внутриутробная активация иммунной системы плода в ответ на COVID-19 у матери //Акушерство, гинекология и репродукция. – 2023. – Т. 17. – №. 2. – С. 188-201.
2. Скрипченко Е. Ю. и др. Оценка влияния этиологического спектра герпесвирусов на системный и локальный иммунный ответ при энцефалитах у детей //Детские инфекции. – 2022. – Т. 21. – №. 2 (79). – С. 11-15.
3. Кривцова Л. А. и др. Совершенствование диагностики внутриутробной инфекции у новорожденных на основе оценки цитокиновой системы // Мать и дитя в Кузбассе. – 2020. – №. 1 (80). – С. 38-43.
4. Левкович М. А. и др. Цитокиновый профиль новорожденных детей с генерализованной герпетической инфекцией // Российский иммунологический журнал. – 2023. – Т. 26. – №. 1. – С. 10-15.

- гический журнал. – 2019. – Т. 13. – №. 2-1. – С. 368-370.
5. Савенкова М. С. и др. Значение герпесвирусов в постковидном периоде у детей //РМЖ. Мать и дитя. – 2023. – Т. 6. – №. 1. – С. 39-44.
 6. Костерина Е. Е. и др. Цитокиновый профиль кала недоношенных новорожденных в диагностике некротизирующего энтероколита: результаты пилотного исследования // Вопросы гематологии, онкологии и иммунопатологии в педиатрии. – 2024. – Т. 23. – №. 1. – С. 119-126.
 7. Кречетова Л. В. и др. Цитокиновый профиль плазмы крови у недоношенных новорожденных при включении интерферона альфа-2b в состав комплексной терапии врожденных пневмоний // Педиатрия. Журнал им. ГН Сперанского. – 2020. – Т. 99. – №. 3. – С. 67-76.
 8. Наврузова Ш. И., Мухаммедова Ш. Т., Сафарова Ш. У. Особенности цитокинового статуса у новорожденных в период ранней адаптации в зависимости от влияния повреждающих факторов // Евразийское Научное Объединение. – 2018. – №. 7-1. – С. 53-55.
 9. Abeywickrema M., Kelly D., Kadambari S. Management of neonatal central nervous system viral infections: Knowledge gaps and research priorities //Reviews in Medical Virology. – 2023. – Т. 33. – №. 2. – С. e2421.
 10. Anderson J. et al. Differential anti-viral response to respiratory syncytial virus A in preterm and term infants //Ebiomedicine. – 2024. – Т. 102.
 11. Dudley J. et al. 912 Herpes simplex virus in infants under 90 days of age in UK and Ireland: results of the 2019–2022 BPSU study. – 2023.
 12. Lino J. F. et al. Prevalence of congenital cytomegalovirus infection in preterm, small for gestational age and low birth weight newborns: characteristics and cytokines profile //World Journal of Pediatrics. – 2022. – Т. 18. – №. 7. – С. 498-504.
-