

Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун, С. В. Пустынникова, Я. Б. Бейкин, Ю. Г. Лагерева

СОСТОЯНИЕ ИММУНИТЕТА У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ, СТРАДАЮЩИХ ГЕРПЕСВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ

*Уральский государственный медицинский университет
Детская городская клиническая больница № 9
г. Екатеринбург*

Аннотация

Проведена оценка иммунного статуса детей первого года жизни, рожденных в группе риска перинатального инфицирования вирусами герпеса. При герпесвирусных гепатитах происходит адекватная мобилизация клеточного и гуморального звеньев. Моноциты выполняют внутриклеточный киллинг на высоком уровне по сравнению с группой контроля. У пациентов отмечается снижение уровня цитокинов IL8 и IL2. Показатели TGF- β 1 и гиалуроновой кислоты не различаются у здоровых детей и больных герпесвирусными гепатитами.

Ключевые слова: дети, цитокины, гепатит, цитомегаловирус, герпес шестого типа, Эпштейн-Барр вирус.

За последние 20 лет в эпоху экологических катастроф формирование патологии гепатобилиарной системы (ГБС) у младенцев является очевидным фактом и обусловлено активизацией возбудителей оппортунистических инфекций [1, 2, 3, 4]. В настоящее время на территории Российской Федерации и Свердловской области отмечается снижение регистрации случаев врожденного гепатита В, поскольку заболевание входит в перечень управляемых инфекций [5]. В современных условиях актуальность проблемы гепатитов у детей раннего возраста обеспечивается вирусами гепатита С, герпесвирусами и пр. [6, 7, 8, 9, 10].

Цель — оценить иммунный статус детей первого года жизни, рожденных в группе риска перинатального инфицирования герпесвирусами.

Программа клинических исследований одобрена Локальным этическим комитетом ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России (ректор — д. м. н., профессор Кутепов С. М.). Наблюдение и обследование 73 детей проводили в 2012-2013 гг. при наличии информированного согласия родителей. Верификация возбудителей вирусного гепатита В, С и TORCH-инфекций осуществлялась методами ИФА- и ПЦР-диагностики, использовались тест-системы фирмы ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск) и наборы «АмплиСенс» (производство ФГУН

ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва).

Исследование иммунного статуса пациентов проводили на базе КДЦ г. Екатеринбурга (главный врач, д. м. н., профессор Бейкин Я. Б.). Содержание цитокинов в сыворотке крови определяли методом ИФА с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Измерение оптической плотности проводили с помощью ИФА-ридера Multiscan EX («Thermo Electron Corporation», Китай). Содержание трансформирующего фактора роста (TGF- β 1) определяли на спектрофотометре MultiscanEX, применяли диагностические тест-системы фирмы «Bioscience» (Германия — Австрия). Гиалуроновую кислоту выявляли наборами фирмы «Corgenix» (Германия — США).

При статистической обработке использовали пакет прикладных программ Microsoft Excel, Statistica 6,0. Применяли методы описательной статистики с вычислением медианы (Me), межквартильного интервала (МКИ), среднего арифметического и 95% доверительного интервала (95%ДИ). Сравнительный анализ качественных и количественных признаков в двух независимых группах проводили с помощью критерия хи-квадрат (χ^2) с поправкой Йейтса и двухвыборочного t-критерия соответственно. Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Таблица 1

Частота обнаружения маркеров герпесвирусных инфекций у детей

Признаки	Группа контроля, n 30	Группа герпес-гепатитов, n 43	p t-test
ПК гепатита С, %	33,3	7,0	0,002
Продолжительность (мес.) циркуляции аНСV (сумм)	6,0 5,0-7,0	10,3 9,6-11,0	0,015
Обнаружение РНК НCV, %	0,0	0,0	–
ПК ЦМВ-инфекции, %	50,0	95,3	0,000
Обнаружение антител аСМV IgM, %	0,0	53,5	0,000
Нарастание титров аСМV IgG, %	0,0	65,1	0,000
Авидность аСМV IgG, % М (95%ДИ)	71,6 65,8-77,4	55,0 47,6-62,4	0,008
Наличие низкоавидных антител аСМV IgG, %	0,0	40,5	0,003
Обнаружение ДНК CMV в крови до 2 мес., %	0,0	65,1	0,000
Наличие ДНК CMV в моче, %	4,0	80,5	0,000
Наличие ДНК CMV в молоке матери, %	0,0	56,0	0,006
Наличие ДНК CMV в буккальном секрете, %	0,0	74,4	0,000
ПК герпесвирусов 1, 2 типа, %	46,7	66,7	–
Обнаружение антител аHSV IgM, %	0,0	0,0	–
Авидность аHSV IgG, % М (95%ДИ)	86,3 79,9-92,7	89,9 85,2-94,5	–
Наличие ДНК HSV 1,2 в крови до 2 мес., %	0,0	0,0	–
Наличие ДНК HSV 1,2 в мазке из зева, %	0,0	0,0	–
ПК ЭБВИ, %	30,0	34,9	–
Обнаружение антител VCA IgM EBV 1-3 мес., %	0,0	2,3	–
Наличие ДНК EBV в крови 1-3 мес., %	0,0	2,3	–
Наличие ДНК EBV в крови 12-24 мес., %	0,0	11,6	–
Выявление ДНК EBV в мазке из зева, %	0,0	11,6	–
ПК ГВИ 6 типа, %	0,0	16,3	–
Наличие ДНК HHV6 в крови 1-3 мес., %	0,0	11,6	–
Наличие ДНК HHV6 в крови 12-24 мес., %	20,0	20,9	–

Характер иммунного ответа исследовали у 30 детей группы контроля, имеющих перинатальный контакт с матерями-носителями вирусов герпеса и гепатита С, и 43 больных, реализовавших перинатальный контакт (ПК) формированием герпесвирусных гепатитов (ГГ) (табл. 1).

У 33,3% детей группы контроля наблюдали ПК с носителями НС-вируса и у 7,0% группы ГГ (p=0,002). Материнские антитела аНСV (сумм) циркулировали не более 6,0 (5,0-7,0) и 10,3 (9,6-11,0) мес. соответственно, где p=0,015. Диагноз врожденного гепатита С был исключен у пациентов обеих групп при отсутствии вирусной РНК в двух анализах.

В структуре ГГ преобладали гепатиты CMV-этиологии — 37 случаев, пять детей заболели ГВИ 6-го типа, у одного ребенка был гепатит EBV-этиологии (рис. 1).

Перинатальный контакт с носителями цитомегаловируса состоялся у 50,0% детей контрольной группы и 95,3% группы ГГ. У 53,5% больных CMV-гепатитом выявили антитела аСМV IgM, у 65,1% отмечали нарастание титров аСМV IgG (p<0,000), у 40,5% детей обнаружили низкоавидные антитела IgG, p=0,003. В 65,1% случаев ДНК CMV обнаружили в крови, в моче — 80,5%, в буккальном секрете — 74,4%, p<0,000. Грудное молоко на наличие CMV исследовали у 20 матерей группы контроля и 25 — группы ГГ: в 56,0% проб при ГГ был получен положительный результат, p=0,006. С носителями HSV ПК состоялся у 46,7% новорожденных группы контроля и 66,7% ГГ (p>0,05), выявляли высокоавидные антитела IgG 86,3% и 89,9% соответственно. У 30,0% здоровых детей и 34,9% больных ГГ был контакт с EBV, а маркеры репликации вируса обнаружили только у одного ребенка. Суперинфицирование EBV наблюдали у четырех детей в возрасте 12-24 мес. Пять детей болели гепатитом HHV6 типа.

Обследование иммунного статуса детей проводили в возрасте 3,8 и 4,5 мес. В группе контроля у 33,3% младенцев были эпизоды затяжной желтухи 37,2 (95%ДИ:24,1-50,3) дней, отмечали увеличение размеров печени и кратковременное повышение уровня трансаминаз на фоне колита, вызванного КI. pneumoniae, где p<0,000 (табл. 2).



Рис. 1. Этиологическая структура герпесвирусных гепатитов у детей

Таблица 2
Анализ клиничко-лабораторных синдромов и инструментальных методов обследования у детей, М (95%ДИ)

Признаки	Группа контроля, n 30	Группа герпес-гепатитов, n 43	p t-test
Возраст исследования иммунитета, мес.	3,8 3,1-4,4	4,5 3,4-5,6	—
Мальчики, %	43,3	55,8	—
Продолжительность желтухи, дни	37,2 24,1-50,3	50,1 37,6-62,7	—
Обилирубин, мкмоль/л	33,2 19,1-47,3	39,3 20,3-58,2	—
Увеличение трансаминаз, %	33,3	100,0	0,000
Уровень АсАТ, ед./л	37,7 30,6-44,9	69,5 51,3-87,8	0,002
Уровень АлАТ, ед./л	33,8 28,0-39,7	67,2 52,9-81,6	0,000
Синдром холестаза, %	3,3	55,8	0,000
Щелочная фосфатаза, ед./л	471,8 369,9-573,7	631,4 524,5-738,2	0,019
ГГТП, ед./л	17,3 13,6-21,0	25,8 17,8-33,7	—
Увеличение печени, %	53,3	95,3	0,000
Увеличение селезенки, %	16,7	79,1	0,000
УЗИ: размер правой доли печени, мм	62,7 60,6-64,8	67,2 64,7-69,6	0,011
УЗИ: размер левой доли печени, мм	31,9 29,9-33,9	31,9 29,9-33,9	—
УЗИ: площадь селезенки, мм ²	7,5 6,8-8,1	9,3 8,1-10,4	0,013

У 43-х детей группы ГГ наблюдали проявления классического гепатита:

- синдром желтухи длился 50,1 (95%ДИ:37,6-62,7) дней, показатель общего билирубина составил 39,3 (95%ДИ:20,3-58,2) мкмоль/л, $p > 0,05$;
- синдром цитолиза проявился повышением уровня АсАТ 69,5 (95%ДИ:51,3-87,8) и АлАТ 67,2 (95%ДИ:64,7-69,6) ед./л, $p = 0,002$ и $p > 0,000$;
- гепатолиенальный синдром характеризовался увеличением печени ниже реберной дуги более чем на 1,7 см. По данным УЗ-обследования, размеры правой доли печени достигали 67,2 (95%ДИ:64,7-69,6) мм ($p = 0,011$), площадь селезенки — 9,3 (95%ДИ:8,1-10,4) мм², $p = 0,013$;
- синдром холестаза отмечали у 55,8% детей, показатель щелочной фосфатазы повышался до уровня 631,4 (95%ДИ:524,5-738,2) ед./л.

Состояние клеточного звена иммунитета у детей характеризовалось достаточным содержанием субпопуляции CD3+ лимфоцитов: в группе контроля 4,51 (95%ДИ:3,95-5,07) и группе ГГ — 4,78 (95%ДИ:4,27-5,29), Т-хелперы достигали уровня 3,19 (95%ДИ:2,84-3,54) и 3,13 (95%ДИ:2,80-3,46) соответственно, $p > 0,05$. Активация цитотоксических лимфоцитов CD3+, CD8+ отмечалась у больных ГГ 1,34 (95%ДИ:1,13-1,55) против 1,05 (95%ДИ:0,82-1,28) группы контроля, $p = 0,031$. У больных ГГ наблюдали увеличение числа лимфоцитов, проявляющих противовирусную активность: с фенотипами CD3-CD16+CD56+ 0,59 (95%ДИ:0,46-0,72) в сравнении с группой контроля 0,44 (95%ДИ:0,35-0,53), где $p = 0,033$ и HLA-DR+CD3+ со значением 0,55 (95%ДИ:0,30-0,80) против 0,31 (95%ДИ:0,22-0,40), где $p = 0,041$.

Гуморальное звено выглядело достойно у пациентов обеих групп: субпопуляция лимфоцитов с фенотипом CD19+CD20+ достигала значений 1,25 (95%ДИ:1,07-1,43) и 1,40 (95%ДИ:1,19-1,61) соответственно ($p>0,05$). Содержание иммуноглобулинов IgA было достоверно выше у пациентов, заболевших ГГ 0,22 (95%ДИ:0,17-0,27) против группы контроля 0,13 (95%ДИ:0,08-0,18) г/л ($p=0,004$). Уровень IgM повышался соответственно до 0,75 (95%ДИ:0,56-0,94) и 0,72 (95%ДИ:0,53-0,91) г/л, показатели IgG оставались низкими 3,16 (95%ДИ:2,54-3,78) и 3,1 (2,69-3,63) г/л, где $p>0,05$.

В фагоцитарном звене иммунитета отмечали высокую бактерицидную активность нейтрофилов у пациентов обеих групп 2,53 (95%ДИ:2,15-2,91) против 2,71 (95%ДИ:2,33-3,09), поглотительная активность — 90,88% (95%ДИ:88,94-92,82) и 91,03% (95%ДИ:89,15-92,91), $p>0,05$. Наблюдали нормальное функционирование НАДФ-оксидазной системы нейтрофилов: спонтанный НСТ-тест 10,93% (95%ДИ:7,86-14,00) группы контроля против 12,29% (95%ДИ:8,00-16,58) группы ГГ, стимулированный НСТ-тест — 17,00% (95%ДИ:12,62-21,38) и 18,83% (95%ДИ:13,92-23,74) соответственно, $p>0,05$. Моноциты проявили высокую поглотительную способность в группе контроля 83,75% (95%ДИ:80,51-86,99) и группе ГГ 86,65% (95%ДИ:84,07-89,23), $p>0,05$. Внутриклеточный киллинг моноцитов был выше у пациентов с ГГ, чем в группе контроля: 0,63 (95%ДИ:0,56-0,70) против 0,55 (0,48-0,62), где $p=0,042$.

Профиль цитокинов TNF- α , IL1- β , IFN- γ , IL6 не отличался у пациентов обеих групп. Наблюдали низкое содержание цитокина IL8 у больных ГГ 8,88 (95%ДИ:7,61-10,15) против 11,2 (95%ДИ:9,36-13,18) пг/мл группы контроля, $p=0,023$. Показатели IL2 были снижены у детей ГГ до 4,13 (95%ДИ:2,58-5,68) в сравнении с группой контроля 6,72 (95%ДИ:5,03-8,41) пг/мл, $p=0,019$. Отмечали тенденцию к низкому содержанию цитокина IL10, ингиби-

рующего воспаление. Трансформирующий фактор роста (TGF- β 1) определяли в количестве 34,96 (95%ДИ:31,61-38,31) в группе контроля и 32,26 (95%ДИ:28,43-36,09) пг/мл ГГ, $p>0,05$. Показатели гиалуроновой кислоты не отличались в группе контроля 56,72 (95%ДИ:47,50-65,94) и группе ГГ — 56,26 (95%ДИ:44,73-67,79) нг/мл. По-видимому, дети первого года жизни имеют высокую концентрацию факторов роста независимо от этиологии заболевания, отражая динамику роста и развития ребенка.

Вывод.

У детей, больных ГГ, происходит адекватная мобилизация клеточного и гуморального звеньев иммунитета, отражающая потенциальные возможности гомеостаза младенцев. Концентрация IgA повышается, а уровень IgG остается низким. Известно, что состояние гипогамма-глобулинемии характерно для детей раннего возраста. Нейтрофилы сохраняют свою функциональную активность, отмечается нормальное функционирование НАДФ-оксидазной системы. Моноциты при ГГ выполняют внутриклеточный киллинг на высоком уровне по сравнению с группой контроля. Складывается впечатление, что при ГГ моноциты берут на себя ведущую роль в мобилизации иммунной защиты по устранению последствий вирусной агрессии. У пациентов с ГГ отмечается снижение показателей провоспалительного цитокина IL8 и регулятора пролиферации, а также дифференцировки Т-лимфоцитов IL2. Следовательно, в организме младенцев происходит мобилизация ресурсов противовирусной защиты путем регулирования процесса взаимодействия клеточного и гуморального звеньев иммунитета, через коррекцию уровня цитокинов и активацию процессов внутриклеточного киллинга моноцитов. Показатели TGF- β 1 и гиалуроновой кислоты не различаются у здоровых детей и больных ГГ. По-видимому, у детей первого года жизни продукция факторов роста не подвержена влиянию вирусов герпеса.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Arshad M., El-Kamary S. S., Jhaveri R. Hepatitis C virus infection during pregnancy and the newborn period-are they opportunities for treatment? // J. Viral. Hepat. 2011. Apr; 18 (4): 229-36.
2. Gallegos-Orozco J. F., Rakela-Brödner J. Hepatitis viruses: not always what it seems to be // Rev. Med. Chil. 2010. Oct; 138 (10): 1302-11.

3. Walz A., Wirth S., Hucke J., Gerner P. Vertical transmission of hepatitis B virus (HBV) from mothers negative for HBV surface antigen and positive for antibody to HBV core antigen // J. Infect. Dis. 2009. Oct. 15; 200 (8): 1227-31.
4. Yinon Y., Farine D., Yudin M. H., Gagnon R. et al. Cytomegalovirus infection in pregnancy // J. Obstet. Gynaecol. Can. 2010. Apr; 32 (4): 348-54.
5. Романенко В. В., Патлусова В. В., Юровских А. И. Оценка эпидемиологической эффективности массовой вакцинации против гепатита В населения Свердловской области // Уральский медицинский журнал. Екатеринбург, 2008. — № 8 (48). — С. 154-7.
6. Ефремова Н. А., Горячева Л. Г., Рогозина Н. В. и др. Клинико-лабораторные особенности неонатальных гепатитов различной этиологии // Детские инфекции. 2012. — Т. 11, № 2. — С. 8-11.
7. Никольский М. А. Клинические варианты первичной инфекции, вызванной вирусами герпеса человека 6-го и 7-го типов, у детей раннего возраста // Педиатрия. 2008. — Т. 87, № 4. — С. 52-5.
8. Учайкин В. Ф., Смирнов А. В., Чуелов С. Б., Россина А. Л. Герпесвирусные гепатиты у детей // Педиатрия. 2012. — Т. 91, № 3. — С. 136-42.
9. Чуелов С. Б. Циррозы печени инфекционной природы у детей. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Москва. — 2009. — 38 с.
10. Mahjoub F., Shahsiah R. et al. Detection of Epstein Barr Virus by Chromogenic In Situ Hybridization in cases of extra-hepatic biliary atresia // Diagn. Pathol. 2008. 3: 19.

Н. А. Цап, И. П. Огарков

НАУКА, ПРАКТИКА И ОБУЧЕНИЕ – 30 ЛЕТ ЕДИНОЙ КОНЦЕПЦИИ РАЗВИТИЯ ХИРУРГИИ ДЕВЯТОЙ ДЕТСКОЙ

*Уральский государственный медицинский университет
Детская городская клиническая больница № 9
г. Екатеринбург*

Аннотация

Нашими учителями был заложен единый коллектив детских хирургов, единый подход в образовательной, практической и научной сфере, сохраненный и усовершенствованный в течение 30 лет работы хирургической службы ДГКБ № 9. Основная идеология этой профессиональной интеграции — готовим достойные кадры, разрабатываем, внедряем в практику и доказываем научно новые технологии в хирургии, стоим на переднем крае экстренной помощи детям.

Ключевые слова: медицинское образование, наука, практика, клиническая база.

В 2015 году два значимых для нас юбилея — 85-летие нашей «alma mater» СГМИ-УГМУ и 30-летие Девятой Детской. Хирургическая служба нашего города, кумулированная в Детской городской клинической больнице № 9, по сути, наследие наших учителей: профессора Зверева Алексея Федоровича, доцента Шуваловой Зои Александровны, профессора Одинака Василия Михайловича, доцента Гридиной Галины Ивановны, профессора Тимофеевой Маргариты Ивановны, врачей-педагогов Дильдина Евгения Владимировича, Вутираса Яна Яновича. Детская хирургия, созданная в Свердловске в 1946 году на базе

ГКБ СМП, 30 лет назад получила значительно лучшие условия в ДМБ № 9 для выполнения своей важнейшей миссии — оказание хирургической и реаниматологической помощи детям, особенно экстренной, на высоком научно-практическом уровне. В жизни нашей больницы и клиники детской хирургии — это более чем половина профессиональной жизни целого поколения врачей и медицинских сестер, это значимый период непрерывного образования, поиска идей и развития технологий, ответственных решений, важных побед и непреодолимых огорчений, поступательного движения вперед, это — 30 выпусков интернов