

Клиническое значение определения матричных металлопротеиназ у новорожденных с врожденной герпетической инфекцией

С.Н. Бениова, С.Ю. Фиголь, Е.В. Маркелова

Дальневосточный федеральный университет; ГБУЗ «Приморский краевой перинатальный центр»; ГБОУ ВПО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», Владивосток

Clinical significance of the determination of matrix metalloproteinases in newborns with congenital herpes virus infection

S.N. Beniova, S.Yu. Figol, E.V. Markelova

Far Eastern Federal University; Primorye Territory Perinatal Center; Pacific State Medical University, Vladivostok

Изучена динамика сывороточного уровня матричных металлопротеиназ (ММП-8, ММП-9) у новорожденных детей с перинатальным контактом с вирусом простого герпеса в ранний неонатальный период для разработки критериев ранней доклинической диагностики инфекции и определения степени тяжести патологического процесса. Обследованы 57 детей, рожденных от матерей с хроническим течением герпетической инфекции. Определение ММП-8 и ММП-9 проведено методом твердофазного иммуноферментного анализа с применением специфических реактивов «R&D Diagnostics Inc» (США). Выявлена различная динамика уровня ММП-8 и ММП-9 в зависимости от сроков появления клинических симптомов врожденной герпетической инфекции. Повышение уровня металлопротеиназ в первые сутки после рождения в плазме крови новорожденных, угрожаемых по развитию герпетической инфекции, можно расценивать как доклинические маркеры проявлений врожденной инфекции. Выявленность изменений уровня сывороточных металлопротеиназ коррелирует с тяжестью течения заболевания.

Ключевые слова: новорожденные дети, матричные металлопротеиназы, ММП-8, ММП-9, герпетическая инфекция.

The time course of changes in the serum levels of matrix metalloproteinases (MMP-8, MMP-9) was studied in neonatal infants after perinatal exposure to herpes simplex virus in the early neonatal period to elaborate criteria for the early preclinical diagnosis of its infection and to define the severity of the pathological process. Fifty-seven infants born to mothers with chronic herpes virus infection were examined. MMP-8 and MMP-9 were determined by a solid-phase enzyme immunoassay using specific reagents (R&D Diagnostics Inc., USA).

Different changes were found in MMP-8 and MMP-9 levels in relation to the onset of clinical symptoms of congenital herpes virus infection. The elevated plasma metalloproteinase levels in the first 24 hours after birth in newborn infants at risk for herpes virus infection may be regarded as preclinical markers for the manifestations of congenital infection. The magnitude of changes in serum metalloproteinase levels correlates with the severity of the disease.

Key words: newborn infants, matrix metalloproteinases, MMP-8, MMP-9, herpes virus infection.

Герпесвирусные инфекции представляют серьезную угрозу для репродуктивного здоровья населения, занимая ведущее место среди причин мертворождаемости, преждевременных родов, младенческой смертности, заболеваемости новорожденных и ранней инвалидизации детей [1, 2]. По данным ряда авторов, у 11–50% новорожденных, рожденных матерями группы высокого инфекционного риска, выявляется внутриутробное инфицирование вирусом простого герпеса (ВПГ), что обуславливает до 45% перинатальных потерь [3, 4].

© Коллектив авторов, 2016

Ros Vestn Perinatol Pediat 2016; 1:46–50

Адрес для корреспонденции: Бениова Светлана Николаевна – д.м.н. проф., зав. кафедрой внутренних болезней Школы биомедицины Дальневосточного федерального университета

690950 Владивосток, ул. Суханова, д. 8.

Фиголь Сергей Юрьевич – зав. отделением реанимации и интенсивной терапии новорожденных Приморского краевого перинатального центра

690011 Владивосток, ул. Можайская, д. 16

Маркелова Елена Владимировна – д.м.н., проф., зав. кафедрой патологической физиологии Тихоокеанского государственного медицинского университета

690002 Владивосток, ул. Острякова, д. 2

Однако несмотря на доступность и повсеместное внедрение современных методов диагностики, этиологическая верификация инфекции у новорожденных представляет определенные трудности, в связи с возможностью отсроченной реализации внутриутробной инфекции и особенностями антителообразования в неонатальном периоде. Клиническая диагностика только с учетом анамнестических факторов риска реализации инфекции и симптомов манифестации заболевания у новорожденного зачастую невозможна из-за неспецифичности и полиморфности проявлений герпетической инфекции, особенно у недоношенных детей. Доказано, что врожденная герпетическая инфекция у недоношенных детей может протекать стерто, под маской и на фоне хронической внутриутробной гипоксии. При этом системная воспалительная реакция слабовыражена, а признаки инфекционного токсикоза, вызванного ВПГ, трудноотличимы от симптомов полиорганной недостаточности, связанной с неинфекционными причинами [2, 4]. Учитывая, что недооценка тяжести инфекционного процесса в ранний неонатальный период, позднее назначение этиотропной и патогене-

нетической терапии существенно ухудшают катамнестические последствия событий перинатального периода, особенно при негрубых отклонениях от нормы у новорожденного, не вызывает сомнения необходимость разработки новых подходов к комплексному решению вопроса о прогнозировании инфекции в неонатальный период.

В настоящее время широко обсуждается вопрос о потенциальной возможности использования уровня биохимических агентов в качестве маркеров выраженности воспалительной реакции и предикторов прогноза при различной патологии у новорожденных детей. Выявлена ассоциация высокого уровня матриксной металлопротеиназы-9 (ММП-9) в плазме крови недоношенных новорожденных с наличием цитомегаловируса в цервикальном канале матерей, нарушением кровообращения 2-го типа, более частыми перивентрикулярными кровоизлияниями и внутриутробными пневмониями [5]. Установлена роль матриксных металлопротеиназ в формировании бронхолегочной дисплазии, патологии пищеварительного тракта у новорожденных [6, 7].

Принимая во внимание немаловажное значение металлопротеиназ в физиологических и патологических процессах эмбриогенеза, воспаления, ремоделирования ткани и репарации, мобилизации матрикс-связанных факторов роста, разрушения гематоэнцефалитического барьера и лейкоцитарной инфильтрации, представляется перспективным исследование данных маркеров для ранней диагностики и прогнозирования проявлений внутриутробной герпетической инфекции в ранний неонатальный период [8].

Целью настоящего исследования явилось изучение динамики сывороточного уровня матриксных металлопротеиназ (ММП-8, ММП-9) у новорожденных детей с врожденной герпетической инфекцией в ранний неонатальный период.

Характеристика детей и методы исследования

В открытое проспективное исследование в параллельных группах включены 57 детей, рожденных от матерей с хроническим течением герпетической инфекции в 2012–2014 гг. (Владивостокский клинический родильный дом №2 Приморского краевого перинатального центра). Всем детям было проведено клинико-биохимическое исследование согласно стандартам, верификация этиологического диагноза выполнялась методом иммуноферментного анализа с использованием тест-систем для обнаружения специфических антител класса IgM и IgG к ВПГ 1-го и 2-го типов, а также методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Материалом для ПЦР-исследования у детей служили кровь, ликвор, отделяемое носоглотки, моча. Оценивали также уровень специфических антител и вирусной нагрузки в сыворотке крови матери. Исследование показателей специфического

иммунитета для определения активности инфекционного процесса у детей проводили повторно с интервалом 1–2 нед.

По результатам клинико-лабораторных исследований все дети были разделены на две группы. В 1-ю группу включены 27 детей с клиническими проявлениями герпетической инфекции на момент рождения. Новорожденные данной группы имели массу тела от 1050 до 2850 г (среднее значение 2120 ± 380 г), длину от 40 до 58 см, оценку по шкале Апгар при рождении от 3 до 7 баллов, гестационный возраст $36,8 \pm 3,7$ нед. У всех детей была диагностирована генерализованная форма герпетической инфекции, которая проявлялась симптомами поражения нервной системы различной выраженности и степени тяжести (100%), у 4 детей выявлены кисты в головном мозге, у 2 – менингоэнцефалит, у 2 – зарегистрирован порок сердца (функционирующее овальное окно), у 2 – неполный и тотальный ателектаз легких, у 8 – гепатоспленомегалия, у 6 – пневмония, у 2 – врожденный везикулез. У 9 новорожденных регистрировали признаки задержки внутриутробного развития по гипотрофическому варианту I, II и III степени.

В 9 случаях (1/3 детей данной группы) заболевание было вызвано ВПГ 1-го типа, в 15 (55,6%) – ВПГ 2-го типа, у 3 (11,1%) детей выделены вирусы обоих типов.

Во 2-ю группу вошли 30 клинически здоровых при рождении детей. Новорожденные имели не менее 6 баллов по шкале Апгар на 1-й минуте жизни и 8 баллов на 5-й минуте жизни, масса тела в среднем в данной группе составляла 2800 ± 450 г, гестационный возраст $38,0 \pm 2,9$ нед. Клинических проявлений болезни при рождении не регистрировали, однако на 3–5-й день жизни у 11 (36,7%) новорожденных выявлена клиника постнатальной герпетической инфекции. В 4 случаях заболевание протекало в локализованной форме с преимущественным поражением кожи, слизистой оболочки носа и рта. У 7 детей зарегистрированы симптомы, характерные для генерализованной формы болезни: неврологические симптомы, у 6 детей признаки пневмонии, в 5 случаях регистрировали гепатоспленомегалию, у 4 детей – отечный синдром, у 2 – пиелонефрит, у 1 ребенка – энтероколит.

У 3 детей, включенных во 2-ю группу, выявлен ВПГ 1-го типа, у 4 – ВПГ 2-го типа, у 1 ребенка зарегистрирована микст-инфекция.

Контрольную группу составили 20 детей, рожденных здоровыми матерями, с оценкой не менее 8 баллов по шкале Апгар на 1-й минуте жизни и 9 баллов на 5-й минуте жизни. При рождении масса тела в среднем в данной группе составляла 2900 ± 650 г, гестационный возраст $39,2 \pm 2,6$ нед. Двукратное лабораторное исследование специфических маркеров герпетической инфекции у детей контрольной группы положительных результатов не выявило.

Определение содержания ММП-9, ММП-8 в сыворотке крови новорожденных проведено методом

твердофазного иммуноферментного анализа с применением специфических реактивов «R&D Diagnostics Inc.» (США). Обследование осуществляли двукратно: при рождении и на 5–7-е сутки жизни. Кровь для исследования забирали сразу после рождения ребенка из катетеризированной пупочной вены в течение первого часа жизни и на 5–7 сутки из периферической вены.

Статистическая обработка данных выполнялась с использованием общепринятых непараметрических методов с помощью программы MS Excel и лицензионной статистической программы Biostat. Достоверными считались различия между группами при вероятности ошибки менее 5% ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Доказано, что основными патогенетическими мишенями для герпесвирусов являются короткоживущие клетки с высоким темпом обмена веществ, поэтому герпесвирусы особенно хорошо колонизируют клетки эпителия и слизистых оболочек, крови и лимфатических клеток [9, 10]. Однако наибольшую тропность и цитодеструктивное действие ВПГ проявляют к клеткам нервной системы, что особенно часто наблюдается при генерализованных формах болезни. Внутритропные герпетические инфекции с антенатальным заражением плода, чаще проявляющиеся диссеминированными формами инфекции, протекают с распространенными поражениями кожи, слизистых оболочек, центральной нервной системы [3, 4, 10]. В настоящем исследовании у всех детей с клиническими проявлениями внутриутробной генерализованной герпетической инфекции при рождении (1-я группа) отмечались признаки поражения нервной системы различной выраженности и степени тяжести, в 29,6% случаев наблюдали поражение легких, в 14,8% – кожи и слизистых оболочек.

Матриксные металлопротеиназы относятся к «индуцируемым» ферментам, транскрипция которых подчиняется ряду факторов-промоторов, в том числе провоспалительным цитокинам, биологически активным веществам, химическим агентам и др. [11–14], продуцируемым патологически пораженными клетками. Кроме того, у ДНК-содержащих вирусов, к которым относится ВПГ, описан механизм кодирования гомологов ряда цитокинов, хемокинов и их рецепторов, играющих ключевую роль в иммунном ответе [9] и, возможно, самостоятельно влияющих на экспрессию матриксных металлопротеиназ в ходе патологического процесса.

Известно, что специфическим субстратом ММП-9 является коллаген IV типа – главный компонент базальной мембраны церебрального эндотелия, а активация ММП-9 сопряжена с миграцией лейкоцитов в ЦНС [11], что позволяет рассматривать данный фермент как один из маркеров перинатального поражения ЦНС, в том числе герпетической этиологии [5, 9], у новорожденных. Кроме того, получены

подтверждения сильного литического потенциала этой металлопротеиназы в отношении фибриллярного коллагена, способствующего протеолизу легочной ткани [12], что ассоциируется с бронхолегочной дисплазией у недоношенных новорожденных [6], а участие ММП-9 в деградации базальной мембраны сосудистой стенки сопровождается развитием отеочного и геморрагического синдромов у новорожденных [13].

Уровень ММП-9 в плазме пуповинной крови у обследованных нами младенцев (рис.1) был достоверно повышен ($338,5 \pm 55,4$ нг/мл; $p \leq 0,001$) у 24 (88,9%) новорожденных 1-й группы в сравнении с новорожденными контрольной группы ($190,3 \pm 30,0$ нг/мл), тогда как у детей 2-й группы отмечена умеренная тенденция к повышению среднего показателя ($239,9 \pm 42,2$ нг/мл; $p \geq 0,05$) от контрольных значений. Однако индивидуальный анализ уровня ММП-9 у детей данной группы выявил достоверное превышение показателей контрольной группы у 10 (33,3%) из 30 новорожденных.

В динамике при повторном обследовании детей 1-й группы наблюдали повышение уровня плазменной ММП-9 ($389,5 \pm 58,4$ нг/мл), причем интенсивность прироста положительно коррелировала с клиническими проявлениями болезни. Максимальные значения уровня ММП-9 с увеличением показателя в 1,5–2 раза в плазме крови были выявлены у детей с признаками менингоэнцефалита и кистозными поражениями ЦНС. Во 2-й группе у 17 (56,7%) детей значения ММП-9 соответствовали контрольным ($179,4 \pm 39,7$ нг/мл), а в 13 (43,4%) случаях регистрировали значимое повышение показателей до $293,8 \pm 41,4$ нг/мл ($p \leq 0,05$ в сравнении с контрольной группой и с предыдущим исследованием). Необходимо отметить (см. рис.1), что все новорожденные 2-й группы с постнатально развившейся клинической картиной герпетической инфекции (11 пациентов) имели высокие значения ММП-9 (более 240 нг/мл).

Установлена ассоциация между уровнем ММП-9 в сыворотке крови новорожденных с клиническими проявлениями внутриутробной герпетической инфекцией в ранний постнатальный период. Антенатальная реализация инфекционного процесса с регистрацией клинических проявлений болезни при рождении ребенка сопряжена с достоверно высоким уровнем данной металлопротеиназы в первые дни жизни младенца. Разнонаправленность изменений уровня ММП-9 во 2-й группе наблюдавшихся новорожденных обусловлена, вероятно, интранатальным/постнатальным инфицированием детей или повышением перmissивности макрофагов для ВПГ и активной репродукции вируса в этих клетках, что является одним из патогенетических механизмов, детерминирующих чувствительность макроорганизма к герпетической инфекции и способствующих развитию клинических проявлений [9] в условиях адаптации новорожденного к внеутробной жизни.



Рис. 1. Динамика уровня ММП-9 в плазме крови (в нг/мл) новорожденных детей с врожденной герпетической инфекцией.

* – Достоверность различий показателей с группой контроля ($p \leq 0,05$);

^ – достоверность различий показателей с предыдущим этапом исследований ($p \leq 0,05$).

ММП-8 (нейтрофильная коллагеназа, коллагеназа-2) является представителем подсемейства коллагеназ и содержится в специфических гранулах полиморфно-ядерных лейкоцитов, играющих существенную роль в фагоцитозе и обладающих высокой способностью к инфильтрации соединительной ткани. Коллагеназы ответственны за деградацию коллагена I, II и III типов, инактивируют фактор свертывания XII. Субстратами для ММП-8 также могут быть нематричные компоненты: плазминоген, фибрин, фибронектин и др. [15].

При исследовании уровня ММП-8 в плазме пуповинной крови у всех новорожденных 1-й и 2-й групп (рис.2) выявлено достоверное превышение показателей, регистрируемых в контроле ($7,3 \pm 2,0$ нг/мл). У новорожденных 1-й группы уровень ММП-8 при рождении составил в среднем $38,5 \pm 15,4$ нг/мл ($p \leq 0,001$), у детей 2-й группы повышение уровня ММП-8 было менее значимым ($18,9 \pm 4,7$ нг/мл), но достоверно отличалось от контрольных значений ($p \leq 0,05$).

В динамике при повторном обследовании детей 1-й группы наблюдали снижение уровня плазменной ММП-8 до $20,5 \pm 5,8$ нг/мл в сравнении с первым этапом исследования, но полученные результаты достоверно отличались от показателей контрольной группы ($p \leq 0,05$). Во 2-й группе при повторном исследовании значения ММП-8 у 12 детей соответствовали контрольным ($9,5 \pm 1,8$ нг/мл). У 18 (60%) детей наблюдали увеличение концентрации ММП-8 до $19,6 \pm 6,4$ нг/мл,

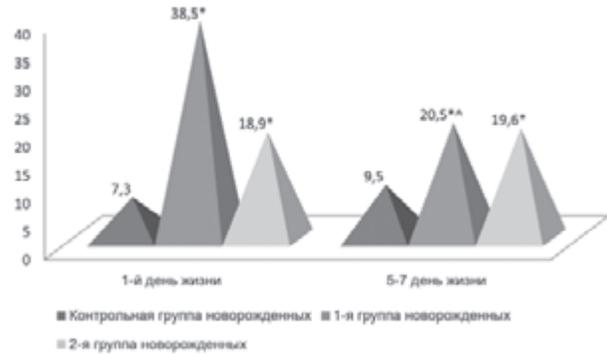


Рис. 2. Динамика уровня ММП-8 в плазме крови (в нг/мл) новорожденных детей с врожденной герпетической инфекцией.

причем в 10 случаях это были дети с постнатальной герпетической инфекцией (см. рис.2).

Вероятно, динамика уровня ММП-8 у новорожденных детей с различными сроками реализации герпетической инфекции на ранних этапах инфекционного процесса сопряжена с ведущей ролью фагоцитов, являющихся одними из основных продуцентов ММП-8 [9, 15].

Заключение

У новорожденных детей с перинатальным контактом по герпетической инфекции выявлена различная динамика уровня ММП-8 и ММП-9 в зависимости от сроков появления клинических симптомов болезни. Высокий уровень исследованных металлопротеиназ в первые сутки после рождения в плазме крови новорожденных, угрожаемых по развитию герпетической инфекции, можно расценивать как доклинические маркеры патологических проявлений врожденной инфекции. Выраженность изменений уровня сывороточных металлопротеиназ коррелирует с тяжестью течения врожденной герпетической инфекции. Подобные исследования у новорожденных немногочисленны, поэтому представляется необходимым и перспективным дальнейшее изучение матричных металлопротеиназ и их тканевых ингибиторов как потенциальных маркеров реализации внутриутробных инфекций и предикторов их исходов у новорожденных.

ЛИТЕРАТУРА (LITERATURE)

1. James S.H., Sheffield J.S., Kimberlin D.W. Mother-to-Child Transmission of Herpes Simplex Virus. J Pediatric Infect Dis 2014; 3: 1: 19–23.
2. Гетия Е.Г. Клинические варианты течения и принципы иммунотерапии врожденных инфекций, вызванных вирусами простого герпеса и цитомегалии, у детей различ-

ного гестационного возраста. Автореферат дисс ...канд. мед.наук. М, 2011; 25. (Getiya E.G. Clinical variants of the course and principles of immunotherapy of congenital infections, herpes simplex virus and cytomegalovirus in children of different gestational age. Avtoref. dis ... k.m.n. Moscow 2011; 25.)

3. Санталова Г.В., Гасилина Е.С., Валеева Г.Р. и др. Оценка состояния здоровья детей, рожденных от герпесинфицированных матерей. Бюллетень медицинских интернет-конференций 2013; 3: 1: 20. (Santalova G.V., Gasilina E.S., Valeyeva G.R. et al. Assessment of health status of children born to mothers infected with herpes. Byulleten' meditsinskikh internet-konferentsij 2013; 3: 1: 20.)
4. Кравченко Л.В. Клинико-патогенетические аспекты герпесвирусных инфекций у детей первых месяцев жизни. Автореферат дис...канд.мед.наук. Ростов-на-Дону 2009; 27. (Kravchenko L.V. Clinico-pathogenetic aspects of herpesvirus infections in children during the first months of life. Avtoref. dis ... k.m.n. Rostov-on-Don 2009; 27.)
5. Фадеева Н.И., Ховалыг Н.М., Ремнева О.В. Оксидантно-антиоксидантный статус недоношенных новорожденных с перинатальными поражениями центральной нервной системы. Росс вестн перинатол и педиатр 2010;55:3:26–30. (Fadееva N.I., Khovalyg N.M., Remniova O.V. Oxidant-antioxidant status in preterm infants with perinatal lesions of the central nervous system. Ross vestn perinatol i pediatr 2010; 55: 3: 26-30.)
6. Давыдова И.В., Яцык Г.В., Бершова Т.В. и др. Матриксные металлопротеиназы как биомаркеры формирования бронхолегочной дисплазии у детей. Пульмонология 2009;4:80–84. (Davydova I.V., Yatsyk G.V., Bershova T.V. et al. Matrix metalloproteinases biomarkers formation of bronchopulmonary dysplasia in children. Pul'monologiya 2009; 4: 80–84.)
7. Хворостов И.Н., Дамиров О.Н., Смирнов И.Е. и др. Кальпротектин и матриксные металлопротеиназы при язвенно-некротическом энтероколите у новорожденных детей. Росс педиатр журн 2013;6:37–44. (Khvostov I.N., Damirov O.N., Smirnov I.E. et al. Calprotectin and matrix metalloproteinases in the necrotizing enterocolitis in newborn infants. Ross pediatr zhurn 2013; 6: 37–44.)
8. Кореновский Ю.В., Ельчанинова Е.А., Фадеев Н.И. Матриксная металлопротеиназа-9, супероксиддисмутаза и перекисное окисление липидов у недоношенных новорожденных с перинатальной гипоксией. Бюллетень сибирской медицины 2011; 10: 2: 26–29. (Korenovskii Yu.V., Elchaninova E.A., Fadeev N.I. Matrix metalloproteinase-9, superoxide dismutase and lipid peroxidation in preterm infants with perinatal hypoxia. Byulleten' sibirskoj meditsiny 2011; 10: 2: 26–29.)
9. Собчак Д.М., Волский Н.Е., Свинцова Т.А. и др. Иммунная система человека и особенности патогенеза герпетической инфекции (обзор). Современные технологии в медицине 2014; 6: 3: 118–127. (Sobchak D.M., Volsky N.E., lead T.A. et al. The human immune system and especially the pathogenesis of herpes infection (Review). Sovremennye tekhnologii v meditsine 2014; 6: 3: 118–127.)
10. Bostikova V., Salavec M., Smetana J. et al. Infections caused by human alpha herpes viruses. Epidemiol Microbiol Immunol 2014; 63: 3: 205–212.
11. Yang Y., Hill J.W., Rosenberg G.A. Multiple roles of metalloproteinases in neurological disorders. Prog Mol Biol Transl Sci 2011; 99: 241–263.
12. Elkington P.T., Friedland J.S. Matrix metalloproteinases in destructive pulmonary pathology. Thorax 2006; 61: 259.
13. Попова И.Г., Назаров С.Б., Филькина Е.В. и др. Эндотелиальная функция в период ранней постнатальной адаптации доношенных новорожденных детей. Педиатрия 2013; 92: 2: 16–21. (Popova I.G., Nazarov S.B., Filkina E.V. et al. Endothelial function in early postnatal adaptation and full-term newborns. Pediatriya 2013; 92: 2:16–21.)
14. Ashlin T.G., Buckley M.L., Salter R.C. et al. The anti-atherogenic cytokine interleukin-33 inhibits the expression of a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs-1,-4 and -5 in human macrophages. Int J Biochem Cell Biol 2014; 46:113–123.
15. Paim L.R., Schreiber R., Matos-Soura J.R. et al. Oxidized low-density lipoprotein, matrix- metalloproteinase-8 and cacoitid atherosclerosis in spinal cord injured subjects. Atherosclerosis 2013; 231: 2: 341–345.

Поступила 09.07.15