

Роль внутриутробной инфекции в механизмах формирования врожденных пороков развития

Скляр К.Е.¹, Малкова Е.М.¹, Рязанцева Н.В.², Гришайева О.Н.¹, Терещенко И.П.¹, Гришайев М.П.¹, Тюнников Г.И.¹, Петров В.С.¹

The role of intrauterine infection in mechanisms of the congenital malformation forming

Sklyar K.Ye., Malkova Ye.M., Ryazantseva N.V., Grishayeva O.N., Tereschenko I.P., Grishayev M.P., Tyunnikov G.I., Petrov V.S.

¹ Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», пос. Кольцово, Новосибирская обл.

² Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Скляр К.Е., Малкова Е.М., Рязанцева Н.В. и др.

Проведено обследование 86 новорожденных детей с врожденными пороками развития (ВПР) различной локализации и клиническими проявлениями внутриутробной инфекции (ВУИ). Молекулярно-биологическими методами проводилась верификация РНК вируса краснухи, ДНК вируса простого герпеса, цитомегаловируса, вируса гепатита В, токсоплазмы (*Toxoplasma gondii*), возбудителей хламидиоза (*Chlamydia trachomatis*), микоплазмоза (*Mycoplasma hominis*) и уреоплазмоза (*Ureaplasma urealyticum*). Показано, что ВПР в 50% случаев сочетались с ВУИ, вызванной указанными возбудителями.

В спектре инфекционных патогенов у детей с аномалиями органов преобладал вирус краснухи (в 83,8% случаев), что отражало эпидемиологическую обстановку в регионе в анализируемый период (1999–2004 гг.). С использованием световой и трансмиссионной электронной микроскопии биоптатов органов с врожденными анатомическими дефектами выявлены морфологические признаки острого и хронического воспаления. У новорожденных детей с ВУИ инфекционный процесс носит пролонгированный характер и продолжается в постнатальном периоде.

Ключевые слова: врожденные пороки развития, внутриутробная инфекция, патогенез.

86 new-born children with congenital malformation forming (CMF) of different localization and clinic manifestations of intrauterine infection (IUI) have been examined. Verification of rubella virus RNA, DNA of herpes simplex virus, cytomegalovirus, B hepatitis virus, toxoplasmosis virus (*Toxoplasma gondii*), causative agents of clamidiosis (*Chlamydia trachomatis*), mycoplasmosis (*Mycoplasma hominis*) and ureaplasmosis (*Ureaplasma urealyticum*) has been made with molecular-biological methods. It has been revealed that CMF in 50% of cases had been combined with IUI caused by abovementioned causative agents. In infectious pathogens of children with organ anomaly the rubella virus prevailed (in 83,8% of cases) that had reflected the epidemic situation in the region in analyzable period (1999–2004). Morphological signs of acute and chronic inflammation have been revealed with the use of light and transmission electron microscopy of biopsy material of organs with congenital anatomic malformations. The new-born children with IUI have inflammable process of prolonged action and it continues in postnatal period.

Key words: congenital malformation forming, intrauterine infection, pathogenesis.

УДК 618.29–007:116.9

Введение

Последние десятилетия характеризуются заметным ростом врожденной патологии в структуре младенческой заболеваемости и смертности, при этом особую значимость приобретают пороки развития. Их частота колеблется в широких пределах – от 21 до 41%, а показатели младенческой смертности при врожденных аномалиях развития в России составляют 405,7 на 100 тыс. родившихся [1].

Внутриутробные инфекции (ВУИ), развивающиеся вследствие ante- или интранатального инфицирования, являются актуальной проблемой современной неонатологии [4]. Использование в их диагностике молекулярно-биологических и генных технологий позволяет глубже изучить тератогенное действие ВУИ и наметить пути предупреждения возникновения врожденных пороков развития (ВПР) и улучшения результатов их лечения [2, 6].

Целью настоящего исследования явилось выявление клинико-патогенетических закономерностей формирования ВПР при ВУИ у новорожденных детей.

Материал и методы

Проведено обследование 86 новорожденных детей с ВПР различной локализации и клиническими признаками ВУИ, находившихся на лечении в хирургическом отделении детской городской клинической больницы № 1 (г. Новосибирск) и в отделении недоношенных детей муниципальной детской клинической больницы № 4 (г. Новосибирск). Среди пороков развития были диагностированы пороки сердца (дефекты межжелудочковой и межпредсердных перегородок, стеноз легочной артерии, персистирующие фетальные коммуникации) – у 43 детей; пороки желудочно-кишечного тракта (врожденная кишечная непроходимость различного уровня) – у 9 пациентов; пороки мочевыделительной системы (экстропфия мочевого пузыря, гидронефроз, уретерогидронефроз) – у 8 новорожденных; пороки развития опорно-двигательной системы (аномалии позвоночника и конечностей, пороки развития лицевого скелета) – у 5 пациентов; пороки развития нервной системы (гидроцефалия, порок развития спинного мозга и позвоночника) – у 8 детей; порок развития передней брюшной стенки (эмбриональная грыжа пупочного канатика) – у 4 пациентов; врожденные опухоли (крестцово-копчиковая тератома, киста яичника) – у 3 детей; множественные пороки развития были диагностированы у 6 новорожденных.

С использованием ПЦР была проведена диагностика на наличие патогенов, наиболее часто вызывающих развитие ВУИ. Проводили определение ДНК вируса простого герпеса (ВПГ), цитомегаловируса (ЦМВ), вируса гепатита В, токсоплазмы (*Toxoplasma gondii*), а также возбудителей хламидиоза (*Chlamydia trachomatis*), микоплазмоза (*Mycoplasma hominis*) и уреоплазмоза (*Ureaplasma urealyticum*). РНК вируса краснухи определяли методом ОТ-ПЦР (обратной транскрипции). Для исследования использовали образцы крови (0,5–1,0 мл) и мочи (1,0–1,5 мл). При постановке ПЦР использовали амплификационные наборы производства ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Исследования проводили в клинико-диагностической лаборатории ЗАО «Вектор-Бест».

Для световой микроскопии образцы резецированных при операциях фрагментов тканей аномально развитых органов фиксировали в 4%-м растворе параформальдегида, обезживали по стандартной методике и заливали в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином и по методу Ван-Гизона. Образцы тканей для электронно-микроскопического исследования помещали в раствор 4%-го параформальдегида, дофиксировали в 1%-м растворе четырехоксида осмия, биоптаты помещали в смесь эпона и арамидита. Готовили полутонкие и ультратонкие срезы. Полутонкие срезы окрашивали 1%-м раствором азура II. Ультратонкие срезы последовательно контрастировали спиртовым раствором уранилацетата и цитратом свинца, изучали в электронном микроскопе «Hitachi-600» (Япония). Исследования проводили в лаборатории ультраструктурных исследований и патоморфологии Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор».

Результаты и обсуждение

Заболевания и пороки развития органов и систем новорожденных относятся к категории критических состояний. У 30 (34,9%) детей с ВПР оперативное лечение потребовалось проводить уже в периоде новорожденности. Причем 8 (9,3%) новорожденных были оперированы в 1-е сут с момента рождения, так как ВПР нарушали витальные функции.

Положительные результаты ПЦР, направленной на выявление нуклеотидных последовательностей вирусов краснухи, ВПГ, ЦМВ, возбудителей токсоплазмоза и хламидиоза, были получены у 43 (50,0%) новорожденных (табл. 1). При этом у подавляющего большинства больных была выделена РНК краснухи – в 36 случаях; у 2 больных была обнаружена ДНК токсоплазмы, у 1 новорожденного – ДНК хламидий и у 1 ребенка – ДНК вируса простого герпеса. У трех больных была верифицирована одновременно РНК краснухи и ДНК хламидий или токсоплазмы, или вируса простого герпеса (табл. 2). Высокий процент обнаружения вируса краснухи соответствовал возрастанию заболеваемости данной инфекционной патологией с достижением эпидемического порога в период проведения исследования (1999–2004 гг.).

Таблица 1

Результаты определения нуклеотидных последовательностей инфекционных патогенов в исследованном материале у детей с врожденными пороками развития

Пороки развития	Общее количество больных	Положительный результат ПЦР	
		Абсолютное количество больных	% от общего количества больных
Врожденные пороки сердца	43 (50,0%)	25	29,1
Пороки центральной нервной системы	8 (9,3%)	5	5,8
Аномалии скелета	5 (5,8%)	4	4,6
Эмбриональная грыжа пупочного канатика	4 (4,6%)	3	3,5
Пороки желудочно-кишечного тракта	9 (10,5%)	2	2,3
Врожденные опухоли	3 (3,5%)	1	1,2
Пороки мочеполовой системы	8 (9,3%)	–	–
Множественные пороки развития	6 (7,0%)	3	3,5
Всего	86 (100%)	43	50

Таблица 2

Распределение частоты нуклеотидных последовательностей инфекционных патогенов в исследованном материале у детей с врожденными пороками развития

Выделенные нуклеотидные последовательности	Количество случаев
РНК краснухи	36 (83,8%)
ДНК токсоплазмы	2 (4,7%)
ДНК <i>S. trachomatis</i>	1 (2,3%)
ДНК вируса простого герпеса	1 (2,3%)
РНК краснухи + ДНК токсоплазмы	1 (2,3%)
РНК краснухи + ДНК вируса простого герпеса	1 (2,3%)
РНК краснухи + ДНК <i>S. trachomatis</i>	1 (2,3%)

Анализ анамнестических данных и клинического течения заболевания не позволил выделить каких-либо специфических симптомов, соответствующих этиологии заболевания. Клинические проявления заболевания и тяжесть состояния детей определялись прежде всего сформировавшимся пороком развития, а также течением инфекционного процесса. Послеоперационный период, несмотря на отсутствие операционных осложнений, усугублялся рецидивирующим воспалением (чаще пневмонией), длительным восстановлением функции оперированного органа, прогрессирующим поражением центральной нервной системы, классифицировавшимся как перинатальная энцефалопатия различной степени тяжести. Это, в свою очередь, приводило к увеличению времени пребывания детей в стационаре, а в некоторых случаях – к повторной госпитализации для проведения реабилитационных мероприятий.

Следует подчеркнуть, что проведенное исследование не дает возможности однозначно рассматривать инфекционный (экзогенный) тип воздействия в качестве ведущей причины возникновения аномалий органов и систем. Однако известно, что вирусы, бактерии и простейшие, воздействуя на плод, могут вызывать индуцированные мутации, хромосомные aberrации, а также оказывать непосредственный по-

вреждающий эффект на органы и ткани с нарушением их дифференцировки [6]. Определение влияния биологических факторов на процессы тератогенеза позволяет разрабатывать программы профилактики, лечения и диспансерного наблюдения с учетом текущего инфекционного процесса.

При разнообразном патологическом воздействии нарушения развития плода морфологически проявляются задержкой развития органов и тканей и (или) формированием их гипоплазии, и (или) развитием гиперплазии отдельных тканей, органов и систем [5]. При этом для плода характерна унифицированность ответных реакций и основанных на них компенсаторных процессов вне зависимости от фактора, вызвавшего указанный процесс. Ответная реакция тканей плода на любое повреждение, включая инфекцию, определяется этапом онтогенеза, состоянием механизмов реализации воспаления, неспецифической иммунологической реактивности, способностью к специфическому иммунному ответу тканей. Однако известно, что воспалительная реакция на ранних этапах эмбриогенеза в развернутом виде невозможна. Воспаление носит редуцированный характер вплоть до достижения определенной степени структурного развития задействованных в воспалительной реакции тканевых единиц [7, 8]. Вместе с тем в тканях эмбриона и плода вирусные частицы способны длительное время персистировать, в связи с этим воспалительная реакция может развиваться в более поздние сроки эмбриогенеза.

При проведении морфологического исследования биоптатов, интраоперационно полученных у детей с ВПР, были выявлены нарушения гистоархитектоники, склеротические и дистрофические явления, признаки нарушения локального кровообращения. При нарушениях строения эпителиальной выстилки в аномально развитых органах было весьма трудно дифференцировать метаплазию и гетероплазию эпителия (рис. 1). Развитие указанных процессов в органах с анатомическими аномалиями, по всей видимости, отражает ис-

ход инфекционного процесса. Вероятно, именно склеротические процессы в аномальных тканях могут оказывать влияние на дальнейшее развитие детей и проявляться в различных формах хронических состояний: бронхолегочной дисплазии при поражении легких, умственной отсталости и гидроцефалии при поражении центральной нервной системы, хронического гепатита и атрезии желчевыводящих путей при поражении печени [3].

Анализируя механизмы формирования ВПР при ВУИ (рис. 2), необходимо отметить, что при внутриутробном инфицировании возбудитель попадает непосредственно в сте-

рильные среды (ткани) организма. Одной из особенностей развития инфекционного процесса при внутриутробном заражении плода и новорожденного является наличие входных ворот инфекции. Для инфицирования плода при наличии у беременной женщины инфекционного заболевания необходимо повреждение отграничительных мембран плаценты, плодных оболочек и пуповины. При этом плацента становится проницаемой для микроорганизмов. Вирусы, размножаясь в клетках плаценты, вызывают повышение ее проницаемости. Однако вирусы способны проникать и через неповрежденную плаценту.

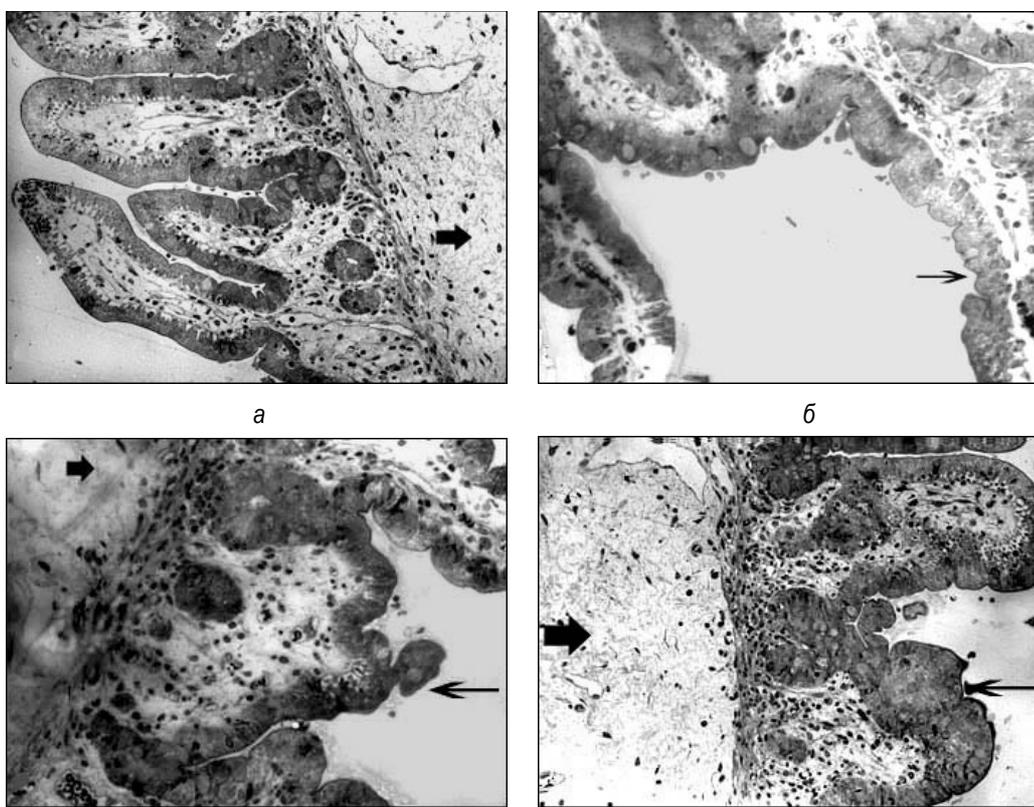
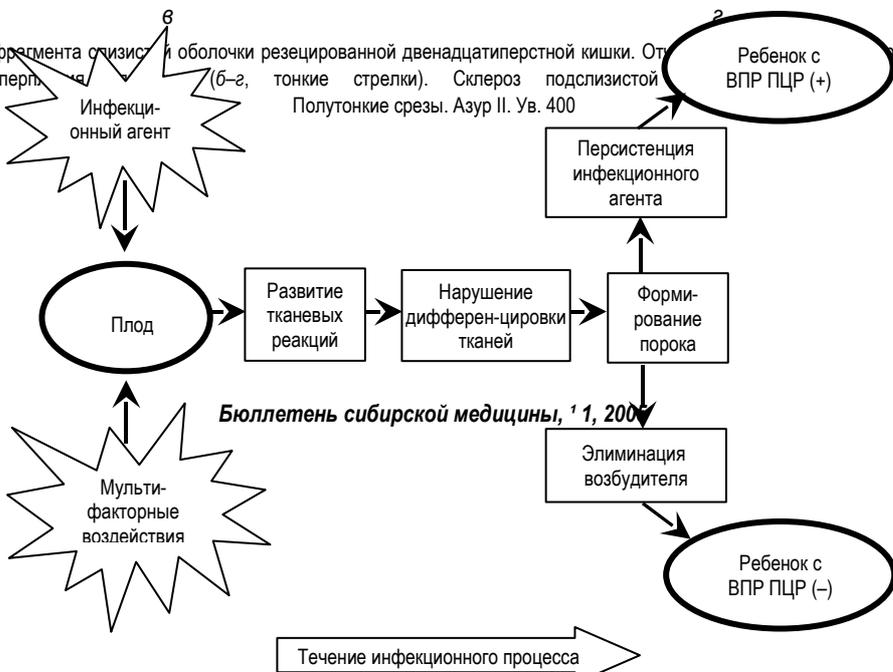


Рис. 1. Микрофотография фрагмента слизистой оболочки резецированной двенадцатиперстной кишки. Отмечено неравномерное распределение ворсинок, метаплазия и гиперплазия крипт (б-г, тонкие стрелки). Склероз подслизистой оболочки (а, б, толстые стрелки). Полутонкие срезы. Азур II. Ув. 400

6.*

83



Бюллетень сибирской медицины, 1, 1, 2007

Течение инфекционного процесса

Рис. 2. Механизмы формирования врожденных пороков развития

При проникновении возбудителя в ткани эмбриона или плода тератогенный эффект развивается при непосредственном влиянии на клетки (цитотоксизм), нарушении дифференцировки тканей или развитии своеобразной воспалительной реакции. Однако патологический процесс носит непрерывный характер, и уже при формировании ВПР продолжается течение инфекционного заболевания, распространяющегося и на постнатальный период. С точки зрения патогенеза заболевания, появление локальных форм ВУИ весьма сомнительно. Можно лишь говорить о локальных проявлениях генерализованной ВУИ при трансплацентарном инфицировании. Ключевым звеном генерализации инфекции является бактерио- или вирусемия. Учитывая механизм заражения при трансплацентарном инфицировании плода, можно предположить, что этап генерализации инфекции происходит внутриутробно. Поэтому, проводя ПЦР-диагностику после рождения ребенка, необходимо учитывать возможность полной элиминации возбудителя из организма, а также его концентрации в тканевом компартменте. При этом отрицательный результат ПЦР не исключает течения инфекционного

процесса, а лишь указывает на отсутствие вирусемии или вирусурии у пациента.

Литература

1. Володин Н.Н. Новые технологии в решении проблем перинатальной медицины // Педиатрия. 2004. № 3. С. 56–60.
2. Малкова Е.М., Терещенко И.П., Гришаева О.Н. и др. Изучение роли вируса краснухи в формировании врожденных пороков развития методом РТ-ПЦР // Детские инфекции. 2004. № 3. С. 5–8.
3. Малкова Е.М., Гришаева О.Н., Корабельщиков Г.Д. и др. Редкие варианты клинических форм хламидийной инфекции у новорожденных // Детские инфекции. 2004. № 4. С. 74–76.
4. Нисевич Л.Л., Талалаев А.Г., Каск Л.Н. и др. Врожденные вирусные инфекции и маловесные дети // Вопросы современной педиатрии. 2002. № 4. С. 9–13.
5. Самсыгина Г.А., Дементьева Г.М., Талалаев А.Г. Здоровье плода и новорожденного: современное состояние и прогноз // Педиатрия. 1999. № 5. С. 4–6.
6. Учайкин В.Ф. Решенные и нерешенные проблемы инфекционной патологии у детей // Педиатрия. 2004. № 4. С. 7–11.
7. Gomez R., Romero R., Ghezzi F. et al. The fetal inflammatory response syndrome // Am. J. Obstet. Gynecol. 1998. V. 179. P. 194–202.
8. Yoon B.H., Romero R., Kim K.S. et al. A systemic fetal inflammatory response and development of bronchopulmonary dysplasia // Am. J. Obstet. Gynecol. 1999. V. 181. P. 773–777.

Поступила в редакцию 12.01.2005 г.