

ДИАГНОСТИКА ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ У ЖЕНЩИН С РЕПРОДУКТИВНЫМИ ПОТЕРЯМИ В АНАМНЕЗЕ

Е. Чигвинцева, кандидат медицинских наук,
Н. Жулимова, кандидат медицинских наук.
Е. Фарленкова
Уральский НИИ дерматовенерологии и иммунопатологии МЗ и СР РФ, Екатеринбург

Женщины, в анамнезе которых зафиксированы репродуктивные потери и герпетическая инфекция, составляют группу риска, в связи с чем в диагностический алгоритм на этапе планирования беременности целесообразно включить комплексное вирусологическое обследование.
Ключевые слова: герпесвирусная инфекция, репродуктивные потери, полимеразная цепная реакция.

По данным отечественных исследователей, самопроизвольное прерывание беременности происходит у каждой 5-й женщины, причем в 75—80% случаев - в срок до 12 нед [3, 5]. В качестве одной из причин преждевременного прерывания беременности, особенно на ранних сроках, рассматриваются герпес-вирусы. Представители семейства *Herpesviridae* относятся к TORCH-комплексу, в который входят инфекции, приводящие к поражению разных систем и органов плода [8]. Симптомы инфекций, вызванные разными представителями *Herpesviridae*, непатогномичны, что обуславливает необходимость разработки клинико-лабораторных критериев диагностики.

После первичного инфицирования вирусы герпеса в форме нуклеокапсида могут пожизненно находиться в клетках нервных ганглиев, секреторных желез, лимфоретикулярных клетках почек, лимфобластах, В-лимфоцитах [5, 10]. Вирусы герпеса обладают уникальными свойствами, которые способствуют развитию внутриутробной инфекции, поражению клеток эмбриона и плода, нарушению митоза инфицированных клеток, их цитолизу, хромосомным абберациям, т.е. оказывают непосредственное цитопатическое, тератогенное или мутагенное действие [2, 6, 7]. При первичном инфицировании и реактивации латентной инфекции происходят активная репродукция и экскреция вирусов, появляются специфические IgM, низкоавидные IgG, антитела к сверхчуждым белкам - маркерам продуктивной инфекции. Активизация инфекции при беременности может сопровождаться как клиническими проявлениями, так и быть бессимптомной; при этом вирус, попадая в плаценту и плод, вызывает деструктивные процессы [8, 11]. При хронических формах и реактивации герпетической инфекции ДНК вирусов может выявляться в плазме и клетках крови. Количество инфекционных агентов, способных к вертикальной пе-

редаче, практически не ограничено [9]. Мониторинг с применением полимеразной цепной реакции (ПЦР) крови 126 новорожденных с различной внутриутробной патологией показал, что среди патогенов преобладали: вирусы герпеса (89,7%), в том числе вирусы Эпштейна-Барр - ВЭБ (в 62,1% случаев), цитомегаловирусы - ЦМВ (у 20,7% пациентов) и вирус простого герпеса - ВПГ (у 6,9%) [5].

На фоне снижения иммунитета, в том числе и физиологического (во время беременности) герпетическая инфекция может приобретать крайне тяжелые формы [12]. Частота ее выявления особенно возрастает при целенаправленном обследовании женщин с невынашиванием беременности «неясного» генеза, составляя 39—74% (Л.А. Марченко и соавт., 1997).

В дерматовенерологической и акушерско-гинекологической службах используются разноплановые методологические подходы и самые разные исследования, вследствие чего высока вероятность получения недостоверных результатов и выбор не всегда действенных средств и схем лечения. В клинической практике часто возникают сложности с трактовкой данных лабораторных исследований, что затрудняет адекватную этиотропную противовирусную терапию. Женщины с репродуктивными потерями в анамнезе и герпетической инфекцией составляют группу риска, в связи с чем целесообразно включать в диагностический алгоритм комплексное вирусологическое обследование на этапе планирования беременности для выявления ВПГ-, ЦМВ- и ВЭБ-инфекций.

Зарубежными и отечественными исследователями показано, что у лиц с субклиническими симптомами генитального герпеса и без них происходит периодическое выделение вируса, причем его частота у пациентов этих групп статистически не различается. Передача ВПГ от инфицированного партнера здоровому в большинстве случаев происходит при субклиническом течении инфекции [1], что подтверждает важность обследования половых партнеров женщин, у которых отсутствуют клинические проявления инфекции.

Нами проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 90 женщин в возрасте от 20 до 42 лет (в среднем - 28,03±5,38 года). У 60 пациенток в анамнезе были репродуктивные потери (регресс беременности, выкидыш в срок до 12 нед), у 30 (группа сравнения) их не было. Основная группа женщин была разделена на подгруппы А и Б, сопоставимые по основным признакам. Критерии включения в исследование: возраст от 20 до 42 лет; регресс беременности в анамнезе в последние 3 года; подписание информированного согласия на обследование; отсутствие инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), на момент обследования; отсутствие клинических проявлений герпесвирусной инфекции на момент обследования. Критерии исключения: возраст <20 и >42 лет; наличие ИППП на момент обследования; репродуктивные потери более 3 лет назад; беременность; клинические проявления герпесвирусной инфекции на момент обследования. Группу сравнения составили женщины в возрасте от 20 до 42 лет без репродуктивных потерь и с нормальной беременностью в анамнезе, без ИППП и клинических проявлений герпесвирусной инфекции на момент обследования.

Основным биологическим материалом служило отделяемое цервикального канала (ЦК) для определения К вирусов герпеса методом ПЦР (традиционный электрофоретический вариант). В углубленном исследовании наряду с ним использовали плазму и лимфоциты крови для определения ДНК ЦМВ и ВЭБ. Определение уровня антител классов М, G и авидности ко всем выше-перечисленным вирусам осуществляли методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Результаты анализировали с помощью программного обеспечения прибора RotorGene 6000 (Corbett Research, Австралия) для проведения ПЦР с детекцией в режиме реального времени. Анализировали кривые накопления флуоресцентного сигнала по каналам для регистрации скопления продуктов амплификации фрагментов ДНК каждого из выявляемых микроорганизмов и по каналу для регистрации продукта амплификации ДНК внутреннего контрольного образца. Результаты интерпретировали по пересечению или отсутствию таковой кривой флуоресценции с установленной на соответствующем уровне пороговой линией, что определяло наличие (или отсутствие) для данной пробы ДНК значения порогового цикла «Сt» в соответствующей графе в таблице результатов. Математический анализ существенности различий удельного веса положительных и отрицательных результатов в сравниваемых выборках осуществляли с помощью критерия Ур с -преобразованием долей (процентов) по Фишеру. На схеме представлен алгоритм обследования пациенток без клинических проявлений герпесвирусной инфекции, предусматривающий последовательность диа-

гностических мероприятий. После оценки клинических данных с учетом данных анамнеза пациентку относят к одной из групп и далее с учетом наличия или отсутствия репродуктивных потерь обследуют. У пациенток без репродуктивных потерь в анамнезе исследуют отделяемое ЦК на наличие ДНК ВПГ, ЦМВ, ВЭБ и определяют уровень антител к вирусам с определением авидности. У женщин с репродуктивными потерями, кроме отделяемого канала шейки матки, необходимо исследовать плазму и(или) лимфоциты крови, а также определить ранние белки для ЦМВ и ВЭБ, которые могут свидетельствовать об активности инфекции. Во всех случаях при

Частота выявления вирусов герпеса разными методами

Вирус	Группа А (n=30)	Группа Б (n=30)	Группа сравнения (n=30)
ВПГ, отделяемое цервикального канала	3(10)	4 (13,3)	0
ЦМВ, отделяемое цервикального канала	1 (3,3)	6(20)	1 (3,3)
ВЭБ, отделяемое цервикального канала	1 (3,3)	2 (6,66)	1 (3,3)
ЦМВ, плазма/лимфоциты		19 (63,3)	5 (16,6)
ВЭБ, плазма/лимфоциты	-	2 (6,66)	0

Примечание. Группа А обследована методом ПЦР в формате электрофореза; группы Б и сравнения - методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.



обнаружении ДНК вирусов обязательны обследование и лечение полового партнера.

В группе А применяли традиционные диагностические технологии; в группе Б было проведено исследование на вирусы герпеса в расширенном формате с использованием в качестве биологических субстратов клеток урогенитального тракта, лимфоцитов и плазмы крови. Исследование в группе сравнения проводилось с применением расширенного комплекса диагностических технологий, как и в группе Б. Изучали частоту выявления герпесвирусной инфекции методом ПЦР у женщин с репродуктивными потерями и в группе сравнения (см. таблицу).

При сравнении групп А и Б оказалось, что ДНК ЦМВ при гибридационно-флуоресцентной ПЦР выявлялась достоверно чаще ($p < 0,01$), чем при использовании ПЦР в формате электрофореза (20 против 3,3%). Частота определения ДНК ВПГ и ВЭБ достоверно не различалась (10,0 и 13,3%). На 2-м этапе исследования изучали плазму и лимфоциты крови женщин на наличие ДНК ЦМВ и ВЭБ. ДНК ЦМВ в группе Б в плазме крови выявлена в 63,3% случаев, в урогенитальном соскобе - в 20,0% ($p < 0,01$), в группе сравнения - лишь в 16,63% ($p < 0,01$). ДНК ВЭБ в основной группе обнаружена в отделяемом ЦК в 3 (3,3%) случаях, в лимфоцитах — у 2 (6,6%) женщин.

При исследовании сыворотки крови в основной группе выявлены вирусспецифические антитела класса IgG к предраннему белку ЦМВ у 3 женщин, у которых также обнаружена ДНК ЦМВ в отделяемом ЦК и плазме, что подтверждает активную репликацию герпес-вируса. При исследовании уровня антител классов М и G к ЦМВ и ВЭБ достоверных различий между основной группой и группой сравнения не выявлено, но обнаружены достоверные различия между ними по уровню антител класса G к ВПГ: 16,6 и 43,3% соответственно ($p < 0,01$), что может свидетельствовать о высоком риске развития активной инфекции у женщин с репродуктивными потерями при последующих беременностях. Не обнаружено достоверных различий между группами при определении авидности, что позволяет сделать вывод о вспомогательном диагностическом значении определения уровня антител.

Анализ амбулаторных карт показал, что 38,3% пациенток с отягощенным акушерским анамнезом были направлены в УрНИИДВиИ акушерами-гинекологами для обследования на ИППП. Согласно результатам анкетирования, проведенного в кожно-венерологических учреждениях Уральского федерального округа, 38,4% пациенток направляются в эти учреждения гинекологами с диагнозами отягощенного акушерского анамнеза, бесплодия, воспалительных заболеваний органов малого таза, для выявления бактериальных и вирусных инфекций, что свидетельствует о несомненной роли дерматовенерологической службы в прегравидарной подготовке женщин [4].

Внедрение гибридационно-флуоресцентного метода в практику обследования увеличило частоту вы-

явления ДНК ЦМВ в отделяемом ЦК в 6 раз, в плазме - в 3 раза. Таким образом, исследование в качестве биологического субстрата плазмы крови и(или) лимфоцитов для выявления ЦМВ и ВЭБ наиболее результативно. Целесообразно последовательно исследовать плазму крови и отделяемое ЦК, что даст возможность выявлять бессимптомную герпесвирусную инфекцию. Применение алгоритма (см. схему) дает возможность усовершенствовать комплексный подход к диагностике представителей семейства *Herpesviridae*, обеспечивает эффективность дифференциальной диагностики, своевременное выявление активной вирусной инфекции.

Литературы

1. Гомберг М.А. Снижение риска передачи инфекции как цель терапии генитального герпеса: обзор литературы // Росс. журн. кожн. и вен. болезней. Приложение «Герпес». - 2009; 1: 41-42.
2. Кицак В.Я. Вирусные инфекции беременных: патология плода и новорожденных. - Кольцово: РМАПО; Вектор-Бест, 2004. - С. 16-17.
3. Кулаков В.И., Сидельникова В.М., Агаджанова А.А. Профилактика, диагностика и лечение невынашивания беременности // Информ. письмо МЗ РФ- 2003.
4. Кунгуров Н.В., Зильберберг Н.В. и др. Современные подходы к организации специализированной медицинской помощи больным урогенитальными вирусными инфекциями. - Курган: Зауралье, 2009. -С. 43-44.
5. Марков И.С., Шунько Е.Е., Муравьева Н.Т. и др. РСН-мониторинг основных TORCH-инфекций (токсоплазмоз, ЦМВ, ВПГ 1, 2, ВЭБ) в патологии новорожденных в г. Киеве // Репродуктивное здоровье женщины. -2002; 2: 122-129.
6. Подзолкова Н.М., Бархина Т.Г., Казачков А.Р. и др. Комплексное морфологическое изучение роли инфекционных процессов в этиологии неразвивающейся беременности // Матер. 6-го Рос. форума «Мать и дитя». -М., 2003.-С. 171.
7. Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности. - М.: Триада-Х, 2002. - С. 52-59. .
8. Цинзерлинг В.А., Мельникова В.Ф. Перинатальные инфекции. Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинко-морфологических сопоставлений: практическое руководство. - СПб.: Элби, 2002. - 352 с.
9. Anzivino E., Fioriti D., MLschitelli M. et al. Herpes simplex virus infection in pregnancy and in neonate: status of art of epidemiology, diagnosis, therapy and prevention // Virology. - 2009; 6: 40.
10. Brown Z. Preventing herpes simplex virus transmission to the neonate// Herpes.- 2004; 11 (3): 175-186.
11. Dollard S., Schleiss M. Screening newborns for congenital cytomegalovirus infection // JAMA. - 2010; 304 (4): 407-408.
12. Jones C. Vertical transmission of genital herpes: prevention and treatment options // Drugs. - 2009; 69 (4): 421-434.