

О.І. Євтушенко

ОСОБЛИВОСТІ ПАТОГЕНЕЗУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВНУТРІШНЬОУТРОБНОЇ ЕНТЕРОВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Національний медичний університет ім. О.О. Богомольця, м. Київ

У роботі представлені результати, одержані при вивченні впливу Коксакі В3 вірусної інфекції вагітних мишей на стан плодів і новонароджених. Встановлено, що віруси Коксакі В3 здатні інтенсивно проникати в плаценту та плоди мишей. Внутрішньоутробна Коксакі В3 вірусна інфекція мишей спричиняє загибель плодів, мертвонародження, достовірно зменшення маси плодів і плаценти. Максимальна ембріопатогенність є характеристикою генетичного варіанту Абент популяції вірусів Коксакі В.

Більшість вірусів здатні проникати крізь плацентарний бар'єр і спричиняти у плоду різні ураження; важливими факторами, що впливають на частоту, характер і ступінь розвитку тяжких дефектів, які індукуються у плоду, є строк вагітності, момент виникнення вірусемії та відповідно вірусної інфекції у плоду. Найтяжкі ембріопатії розвиваються в ранні строки вагітності, в цей період всі клітини плоду чутливі до вірусу. Для деяких вірусів необхідною умовою проникнення в плід є розмноження в плаценті. Можливість проходження вірусів Коксакі В через плаценту матері до плоду доведена в клінічних та експериментальних спостереженнях під час ізоляції цих вірусів з меконію та внутрішніх органів новонароджених дітей, що померли в перші дні життя [1-3].

На думку багатьох авторів, вірусні ембріопатії викликають однотипні аномалії розвитку. Однак це не завжди підтверджується клінічними спостереженнями. Тому слід визнати, що в походженні ембріопатій людини певну роль має специфічність вірусу і не останню – інфіктивна доза. Поки відсутні дані про характер залежності між інфіктивною дозою вірусу та ступенем ураження плоду, але реально, що найнезначніші ушкодження капілярів та епітелію ворсинок плаценти, які відмічаються протягом вагітності при різних патологічних процесах, істотно збільшують проникність плаценти для вірусів [4].

У досліджах на мишах деякі автори вивчали вплив Коксакі А вірусної інфекції на організм вагітних самок та їх нащадків. При інфікуванні мишей на 4-й, 7-й, 11-й, 15-й, 19-й дні прототипним штамом вірусів Коксакі А основними резервуарами вірусів були поперечносмугасті м'язи та плацента. Найінтенсивніше проникнення вірусів у тканини ембріону спостерігали в другій половині вагітності. Відзначали високу ймовірність тривалої персистенції вірусів в організмі новонароджених мишей [5-8]. Важливими для вивчення залишаються питання про залежність наслідків внутрішньоутробної ентеровірусної інфекції від періоду вагітності, в якому відбулося інфікування, та від біологічних властивостей вірусів.

Тому метою роботи було вивчення особливостей перебігу експериментальної внутрішньоутробної Коксакі В вірусної інфекції.

Матеріали і методи

Тварини. При проведенні досліджень використовували статевозрілих мишей С57BL/6 2-3-місячного віку масою 16-20 г.

Клітинні культури. Для вірусологічних досліджень використовували перещеплювані культури клітин типу *Vero*. Пасажі цих клітин проводили за класичними методами.

Віруси. Віруси Коксакі В3 (КВ3) штам *Nancy* були отримані з Інституту поліомієліту та вірусних енцефалітів АМН СРСР у 1983 р.; селекціоновані генетичні варіанти вірусу Коксакі В3 – Абент⁺ та Абент⁻. Пасажі вірусів проводили за класичною методикою. Концентрування вірусів проводили із застосуванням природного сорбенту бентоніту [9]. Титри вірусів оцінювали за бляшкоутворенням під бентонітовим покриттям [10] і мікрометодом за ЦПЕ [11]. Кількість вірусів вимірювали у бляшкоутворювальних одиницях – БУО.

Селекцію бентонітових генетичних варіантів вірусів здійснювали за оригінальним методом, розробленим В.П. Широковим при відкритті феномену дисоціації ентеровірусів і дослідженні його закономірностей [12, 13]. Принцип методу полягає в тому, що частина популяції ентеровірусів має висо-

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

кий афінитет до сорбенту бентоніту, тому адсорбуються при нейтральних та слабколужних рН. Такий варіант популяції одержав символ Абент⁺, інша мінорна частина популяції – віруси з низьким афінитетом до бентоніту – варіант Абент⁻.

Мишей інфікували внутрішньоочеревиною, доза вірусів 1×10^5 БУО.

Вміст вірусів у плаценті та плодах визначали таким чином [9]. Шматочки тканини зважували та розтирали в стерильній ступці зі стерильним піском. Готували суспензію у середовищі 199 з антибіотиками. Суспензію переносили до стерильного флакону і тричі проводили процедуру заморожування-розморожування для звільнення вірусів з клітин. Потім центрифугували при 3000 об./хв протягом 20 хв. Для подальшого дослідження використовували надосадову рідину (в якій містяться віруси) після її деконтамінації диетиловим ефіром. В одержаному матеріалі визначали кількість вірусів методом титрування з використанням бентоніту.

Для обробки та аналізу отриманих даних застосовували методи варіаційної статистики [14, 15].

Результати досліджень та їх обговорення

Проведені експериментальні дослідження показали, що ентеровіруси здатні проникати крізь плаценту і уражати плід. Наслідки внутрішньоутробного інфікування значною мірою зумовлені типом і біологічними властивостями ентеровірусів, періодом вагітності мишей. Були використані селекціоновані із загальної популяції генетичні бентонітові варіанти вірусів Коксакі В3. Вони відрізняються високим та низьким афінитетом до природного сорбенту бентоніту (відповідно варіанти Абент⁺ та Абент⁻), а також вірулентністю, антигенністю, імуногенністю, деякими

фізико-хімічними характеристиками [16]. Наслідком внутрішньоутробного ентеровірусного інфікування є самовільні викидні на першому тижні вагітності, внутрішньоутробна загибель плоду, мертвонародження, поява нежиттєздатного, хворого потомства (табл. 1).

Найбільшою патогенністю для плоду на 3-му тижні вагітності характеризується варіант Абент⁻ вірусу Коксакі В3. Протягом перших 2 діб після інфікування цей вірус викликає загибель 96,9 % плодів і 3,1 % мертвонароджень ($P < 0,01$). У той же час варіант Абент⁺ впливає на розвиток плоду дуже незначною мірою: внутрішньоутробна загибель – 1,8 %, мертвонародження – 0,9 %.

Вірусологічні дослідження органів і тканин інфікованих плодів демонструють ознаки певного тропізму ентеровірусів. Достовірно найвищий вміст вірусу Коксакі В3 та генетичного варіанту Абент⁻ порівняно з контрольною та іншими дослідними групами виявляли в підшлунковій залозі, печінці, мозковій і м'язовій тканинах (табл. 2).

Наявність у кожного плоду мишей індивідуальної плаценти повинна забезпечити захист частини тварин від безпосереднього цитодеструктивного вірусного впливу. Але, незважаючи на відсутність вірусу в тканинах частини плодів, частота появи нежиттєздатного, хворого потомства дещо вища. Це свідчить на користь того, що вірусна інфекція матері опосередковано зумовлює шкідливий вплив на життєдіяльність плоду.

Підтвердженням цієї тези є різниця між масою плодів і плаценти в дослідних і контрольній групі (табл. 2). Інфікування вагітних мишей генетичним бентонітовим варіантом Абент⁻ вірусу Коксакі В3

Таблиця 1

Середня частота виявлення впливу вірусів Коксакі В3 на стан плодів мишей (%)

Група тварин	Стан плодів		
	внутрішньоутробна загибель	мертво-народження	хворі новонароджені миші
Вагітні неінфіковані миші (контрольна група, n=30)	0	0	0
Вагітні миші, інфіковані вірусом KB3 (загальна популяція, n=30)	$25,9 \pm 1,1$ $P_1 < 0,01$	$52,4 \pm 0,8$ $P_1 < 0,01$	$21,7 \pm 0,4$ $P_1 < 0,01$
Вагітні миші, інфіковані генетичним варіантом популяції KB3 Абент ⁺ (n=30)	$1,8 \pm 0,3$ $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,01$	$0,9 \pm 0,1$ $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,01$	$7,3 \pm 1,4$ $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,01$
Вагітні миші, інфіковані генетичним варіантом популяції KB3 Абент ⁻ (n=30)	$96,9 \pm 1,2$ $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,01$ $P_3 < 0,01$	$3,1 \pm 0,2$ $P_1 < 0,01$ $P_2 < 0,01$ $P_3 < 0,02$	0 $P_1 > 0,05$ $P_2 < 0,01$ $P_3 < 0,01$

Примітки (тут і далі): P_1 – достовірна різниця порівняно з контролем; P_2 – з групою тварин, інфікованих загальною популяцією вірусів KB3; P_3 – з групою тварин, інфікованих генетичним варіантом Абент⁺ вірусів KB3.

Наслідки внутрішньоутробної Коксаки В3 вірусної інфекції у мишей

Група тварин	Наслідки інфікування			
	Маса, г		Частота виділення вірусів, %	
	плодів	плаценти	з плодів	з плаценти
Вагітні неінфіковані миші (контрольна група, n=30)	1,40±0,10	0,14±0,01	0	0
Вагітні миші, інфіковані вірусом КВЗ (загальна популяція, n=30)	0,90±0,05 P ₁ <0,01	0,09±0,03 P ₁ <0,01	64,7±1,1	81,2±0,4
Вагітні миші, інфіковані генетичним варіантом популяції КВЗ Абент+ (n=30)	1,20±0,10 P ₁ >0,05 P ₂ <0,01	0,13±0,02 P ₁ >0,05 P ₂ <0,01	34,9±2,1 P ₂ <0,01	13,6±1,6 P ₂ <0,01
Вагітні миші, інфіковані генетичним варіантом популяції КВЗ Абент- (n=30)	0,70±0,10 P ₁ <0,01 P ₂ >0,05 P ₃ <0,01	0,06±0,01 P ₁ <0,01 P ₂ <0,02 P ₃ <0,01	99,9±0,3 P ₂ <0,01 P ₃ <0,01	93,3±1,6 P ₂ <0,02 P ₃ <0,001

призводило до зменшення маси плодів відповідно в 2,0 та 1,7 разу (P₁, P₃<0,01), плаценти – відповідно в 2,3 та 2,2 рази (P₁, P₃<0,01) порівняно з контрольною групою та групами тварин, інфікованих варіантом Абент⁺.

Вірогідність проникнення вірусів Коксаки В у плаценту була також відповідно найвищою для генетичного варіанту Абент⁻ – 81,2 % випадків, в 6,9 разу більше, порівняно з варіантом Абент⁺ (P<0,01).

Подібні тенденції були виявлені в експериментах В. Lansdown – Коксаки В вірусна інфекція самок мишей спричиняла значно більші ушкодження плодів внаслідок введення вірусів на 4-й або 8-й день вагітності, ніж на 12-ту добу [17].

Одержані факти є принципово новими та важливими для пізнання закономірностей патогенезу вірусиндукованої пренатальної та перинатальної патології.

Висновки

1. Ентеровіруси здатні проникати крізь плаценту та ушкоджувати плід. Наслідки внутрішньоутробної Коксаки В вірусної інфекції залежать від періоду вагітності та строків зараження. Інфекція більш небезпечна в пізньому, ніж в ранньому періоді вагітності.

2. Генетичний варіант популяції вірусів Коксаки В Абент⁻ істотно відрізняється максимально високою ембріопатогенністю від варіанту Абент⁺.

Література

1. Basso N.G., Fonseca M.E., Garcia A.G. et al. Enterovirus isolation from foetal and placental tissues // *Acta Virol.* – 1990. – V. 34, N 1. – P. 49-57.

2. Strong B. S., Young S. A. Intrauterine coxsackie virus, group B type 1, infection: viral cultivation from amniotic fluid in the third trimester // *Am. J. Perinatol.* – 1995. – V. 12, N 2. – P. 78-79.

3. Zdziennicki A. Maternal viral infections as a fetal risk factor // *Wiad. Lek.* – 1992. – V. 45, N 15-16. – P. 619-622.

4. Оганесян О.Т., Ритова В.В., Чеботарьев В.В. Вірусні інфекції і внутрішньоутробна патологія // *Вопросы вирусологии.* – 1969. – № 6. – С. 47-53.

5. Гичева Т.А. Моделирование Коксаки-вирусной инфекции у беременных мышей в условиях долговременного эксперимента // *Журн. гигиены, эпидемиол. и иммунол.* – 1988. – Т. 32, № 4. – С. 463-469.

6. Королькова Е.Л., Лозовская Л.С., Тадтаева Л.И., Хелленов Э.А. Значение антенатальной Коксаки-вирусной инфекции в этиологии врожденных пороков сердца у детей // *Кардиология.* – 1989. – Т. 29, № 1. – С. 68-71.

7. Лозовская Л.С., Соболева В.Д., Дуб Н.В. и др. О риске внутриутробного заражения плода человека вирусами Коксаки при беременности, осложненной поздним токсикозом и пиелонефритом // *Вопр. вирусологии.* – 1983. – № 6. – С. 698-702.

8. Яворовская Е.В., Благерман С.К., Гичева Т.А. Врожденные инфекции, вызванные вирусами Коксаки // *Акушерство и гинекология.* – 1985. – № 4. – С. 20-22.

9. Применение бентонита для выявления энтеровирусов у человека и во внешней среде: Метод, рекомендации / Ширококов В.П., Гирич В.Н., Якименко А.И. и др. – Киев, 1986. – 22 с.

10. Ширококов В.П. Использование бентонитового покрытия для титрования энтеровирусов методом бляшек // *Вопр. вирусологии.* – 1973. – № 5. – С. 611-615.

11. Руководство по вирусологическим методам. – Москва, 1996; *Manual for the virological investigation of polio*, WHO, 1997.

12. Ширококов В.П. Дифференциация вирусов Коксаки по характеру адсорбции на бентоните // *Acta virologica.* – 1968. – № 12. – С. 185.

13. Ширококов В.П. Сравнительное изучение биологических свойств вирусов Коксаки и их селекционированных вариантов: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Киев, 1977. – 36 с.

14. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич Л.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Экспериментальные исследования. Клинические испытания. Анализ фармацевтического рынка. – К.: Морион, 2000. – 319 с.

15. Минцер О.П., Угаров Б.Н., Власов В.В. Методы обработки медицинской информации. – К.: Вища школа, 1991. – 271 с.

16. Ширококов В.П., Корнюшенко О.М., Мельник В.В. та ін. Дисоціація ентеровірусів – новий генетичний феномен // Журнал АМН України. – 1996. – Т. 2, № 3. – С. 387-402.

17. Lansdown B. G. Influence of time of infections during pregnancy with coxsackievirus B3 on maternal pathology and foetal growth in mice // Br. J. Exp. Path. – 1985. – V. 56, N 119 A. – P. 436-442

CHARACTERISTIC FEATURES OF PATHOGENESIS OF EXPERIMENTAL INTRAUTERINE ENTEROVIRUS INFECTION

O.I. Yevtushenko

SUMMARY. The article introduces the results of study of Coxsackie B3 virus infection influence of pregnant mice on condition of fetuses and neonates. It is established, that the viruses Coxsackie B3 are able to penetrate intensively into placenta and fetuses of mice. Intrauterine Coxsackie B3 virus infection of mice induces the destruction of fetuses, stillbirths, authentic decrease of fetuses and placenta mass. Maximum embryopathogenicity is the characteristic of genetical variant Abent of a Coxsackie B virus population.

© Андрейчин М.А., 2005
УДК 616.9-02

М.А. Андрейчин

НОВІ ЕТІОЛОГІЧНІ ФОРМИ ІНФЕКЦІЙНИХ ХВОРОБ

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

За останні 25 років біологічні науки збагатились методами досліджень, які здійснили справжню науково-технічну революцію в пізнавальному процесі. Арсенал діагностики інфекційних хвороб поповнили принципово нові методи: імуноферментний і радіоімунний аналіз, полімеразна ланцюгова реакція. Вдалось розшифрувати молекулярну організацію багатьох збудників і відкрити низку нових патогенів.

Вчення про інфекційні хвороби набуло такого бурхливого розвитку, що навіть висококваліфіковані фахівці в цій галузі медицини не встигають опанувати нові знання. Тому метою нашого аналітичного огляду було узагальнити основні здобутки в розшифруванні низки нозологічних і клінічних форм й висвітлити їх загальномедичне значення.

Починаючи з 80-х років минулого століття і дотепер відкрито понад 30 раніше не відомих патогенних пріонів, вірусів, хламідій і бактерій та довести їх етіологічну роль у патології людини (табл. 1). Завдяки цьому палітра інфекційних хвороб людини істотно розширилась. Найбільше місце серед них посіли вірусні інфекції.

Пріонові хвороби. Пріони – новий клас інфекційних агентів, які складаються лише зі змінених (патогенних) власних білкових молекул. Вони не містять нуклеїнових кислот і цим відрізняються від усіх інших відомих мікроорганізмів. Відкриття пріонів стало науковою сенсацією ХХ століття.

Встановлено, що протеїн-пріон (PrP) є глікопротеїдом з молекулярною масою 33-35 kD, який кодується єдиним геномом, розташованим у людини в 20-й хромосомі. Найвищу концентрацію PrP виявлено в нейронах, але його можуть синтезувати й багато інших клітин організму. Цей білок існує у двох формах: у вигляді нормальної неінфекційної форми, яка виявляється в головному мозку як у нормі, так і при патологічних станах (позначається як клітинний протеїн-пріон, або PrP-с); у вигляді його ізоформи, або PrP-Sc (від *scrapie* – тремор овець), яка вважається патологічною інфекційною формою, що накопичується в головному мозку тільки людей і тварин, котрі хворі на спонгіформну (губчасту) трансмісивну енцефалопатію. Патогенні пріони є мутантами PrP-с. На сьогодні встановлено 18 різних мутацій гена PrP людини, які асоційовані з різними пріоновими хворобами.