

# РОЛЬ АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ CD14, TLR2, TLR6 В РАЗВИТИИ ВНУТРИУТРОБНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСАМИ СЕМЕЙСТВА *HERPESVIRIDAE*

Мироненко М.М., Долгих Т.И.

Государственное образовательное учреждения высшего профессионального образования «Омская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Центральная научно-исследовательская лаборатория, г. Омск

**Резюме.** Приводится описание клинического случая полиморфизма генов CD14, TLR2, TLR6 у ребенка с внутриутробной инфекцией вирусной этиологии. Представлен возможный механизм развития фатального исхода внутриутробной инфекции.

*Ключевые слова:* полиморфизм генов, внутриутробные инфекции, вирусы.

*Mironenko M.M., Dolgikh T.I.*

## DEVELOPMENT OF INTRAUTERINE INFECTION CAUSED BY HERPESVIRIDAE: A ROLE OF CD14, TLR2, TLR6 ALLELIC POLYMORPHISM

**Abstract.** We present a clinical case of a viral intrauterine infection in an infant with certain combination of CD14, TLR2, TLR6 gene polymorphisms. A possible mechanism is proposed for development of fatal outcome in such prenatal infections. (*Med. Immunol.*, vol. 12, N 1-2, pp 151-154)

*Keywords:* gene polymorphism, intrauterine infections, viruses.

Внутриутробные герпес-вирусные инфекции представляют серьезную проблему для здравоохранения в связи с высоким уровнем инфицирования населения (90-95% — для инфекции, вызванной вирусом простого герпеса, и от 50 до 90% — для цитомегаловирусной инфекции), частыми рецидивами, разнообразной клинической картиной и бессимптомным течением, способностью вызывать патологию беременности, плода и новорожденного. Вероятность инфицирования плода при первичной герпес-вирусной инфекции матери составляет 40-50% [1, 2, 3].

### **Адрес для переписки:**

Мироненко Мария Михайловна  
644099, г. Омск, ул. Красный Путь, 18, кв. 98.  
Тел.: (913) 964-18-71.  
Факс: (3812) 36-17-90.  
E-mail: dr\_mmm@rambler.ru

С развитием молекулярно-генетических технологий и идеологии позиционного и кандидатного картирования анализ наследственных основ инфекционной перинатальной патологии направлен на поиск конкретных генов, ответственных за возможность развития заболевания у ребенка, рожденного от матери с диагностированной внутриутробной инфекцией [4]. Полиморфизм генов системы врожденного и адаптивного иммунитета определяет особенность индивидуального воспалительного ответа на вирусную инфекцию. В возможности развития инфекции большую роль играют не столько отдельные аллели генов, сколько их сочетания, «генетические ансамбли» [5]. Такие сочетания могут быть неодинаковы в популяциях, обуславливая различия в подверженности к развитию внутриутробной инфекции у ребенка. Поэтому перспективными направлениями исследований

генетических основ внутриутробных инфекций являются изучение вкладов конкретных сочетаний аллелей в подверженность к болезни. Вероятность развития внутриутробной инфекции у новорожденного, вероятно, связана с полиморфизмом и экспрессией генов иммунного ответа. В противостоянии атаке вирусов и контроле вирусной инфекции в организме отдельного индивидуума и популяции человека комплексно задействуется весь арсенал врожденного и адаптивного иммунитета. На молекулярно-клеточном уровне множественные взаимодействия вирусов в системе паразит – хозяин вызывают разнообразные и многоуровневые ответы со стороны врожденного и адаптивного иммунитета. Первой линией защиты организма против вирусов является система врожденного иммунитета, которая обеспечивает быструю защиту от агента и определяет пути адаптивного иммунитета. Узнавание лиганда вируса (липопротеины, липопептиды, ДНК) осуществляется рецепторами, распознающими патоген, в первую очередь рецепторами эндоцитоза (CD14) и сигнальными рецепторами (Toll-рецепторы). В основе причин тяжелого течения и летального исхода человека от вирусных может лежать аллельный полиморфизм генов, кодирующих синтез рецепторов, распознающих патоген. CD14 на поверхности фагоцита распознает лиганд микроорганизма и активирует TLR, которые в случае проникновения вируса индуцируют MyD88-независимый путь трансдукции сигнала тревоги и приводит к продукции интерферонов. В зарубежной литературе описана корреляция тяжести течения внутриутробных инфекций с частотой точечной однонуклеотидной замены 159 С/Т в гене CD14, Arg753 Gln в гене TLR2 и Ser249Pro в гене TLR6 [7-11].

Вышеописанное послужило предпосылкой для изучения роли полиморфизма генов системы врожденного иммунного ответа в развитии внутриутробной инфекции.

Для иллюстрации роли полиморфизма генов системы врожденного иммунитета в развитии внутриутробной инфекции вирусной этиологии представляем выписку из истории болезни ребенка.

София К., 5 мес., 21 дн., поступила в детскую клиническую больницу № 2 с жалобами мамы на беспокойство ребенка, одышку в покое, посинение носогубного треугольника при кормлении, отказ от еды.

Из анамнеза: ребенок от молодых родителей. Ребенок от 4 беременности (1, 2 – медаборты, 3 – протекала без патологии, закончилась рождением здорового ребенка). Настоящая беременность протекала на фоне активного течения цитомегаловирусной и герпетической инфек-

ции, установленной в сроке 20 недель. Клинических проявлений не было, в связи с чем лечение не проводилось. Роды вторые, срочные, путем кесарева сечения. Масса ребенка при рождении – 3000 г, длина – 51 см. Закричала сразу. Оценка по шкале Апгар – 7/8 баллов. Ведущий синдром при рождении – угнетение центральной нервной системы. На 1 сутки жизни – приступ апноэ, брадикардия, что было расценено как проявление псевдобульбарного синдрома у ребенка с перинатальным поражением центральной нервной системы. Ребенок переведен в городской неонатальный центр, где был выставлен основной диагноз: перинатальное инфекционное поражение центральной нервной системы (Cytomegalovirus и Herpes virus simplex): субарахноидальное кровоизлияние, миотонический синдром, псевдобульбарный синдром. Методом ИФА выявлен повышенный титр антител класса IgM и IgG к CMV и HSV, высокоavidные антитела класса IgG. Пролечена противовирусными препаратами: «Неоцитотект» (Biotest Pharma (Германия)) и «Медовир» (Медокеми Лтд. (Кипр)). Выписана с улучшением по неврологической симптоматике. В течение последних 2 месяцев – ухудшение состояния: появились признаки недостаточности кровообращения – одышка, акроцианоз. На электрокардиограмме впервые выявлена синусовая тахикардия до 200 в мин, увеличение обоих желудочков, предсердий, гипоксические изменения в миокарде. Эхокардиографически: увеличение полостей левых отделов сердца, утолщение стенок левого желудочка, межжелудочковой перегородки, уплотнение стенок аорты, створок митрального, аортального клапанов, регургитация 3 степени с митральным клапаном, снижение сократительной способности миокарда, фракция выброса – 28%, зоны акинезии в миокарде. Данная ультразвуковая картина свидетельствует в пользу раннего врожденного кардита. Методом РИФ выявлен антиген CMV в моче. Ребенок направлен на госпитализацию в детскую клиническую больницу № 2.

При поступлении состояние ребенка ближе к тяжелому за счет недостаточности кровообращения. Сосет по 40 мл, не срыгивает. Питание достаточное. Мышечная гипотония. Поза «лягушки». На осмотр реагирует адекватно. Кожа «мраморная», акроцианоз, дистальные отделы конечностей холодные. Пастозность голеней. Слизистые обычного цвета, чистые. Периферические лимфоузлы без особенностей. Над легкими – ясный легочный звук, дыхание жесткое, хрипов нет. Границы сердца расширены влево (+2 см кнаружи от среднеключичной линии), вправо (+3 см кнаружи от края грудины). Тоны сердца глухие, ритм правильный, на верхушке

и в точке Боткина–Эрба выслушивается шум относительной митральной недостаточности, не иррадирует за кардиальную область.

Живот мягкий, безболезненный. Печень – +4 см из-под края реберной дуги, край печени эластичный, подвижный, безболезненный. Селезенка не пальпируется. Дефекация не нарушена. Мочится редко.

В клиническом анализе крови выявлен лимфоцитарный лейкоцитоз. Рентгенографически – признаки кардиомегалии. После проведения катетеризации периферической вены у ребенка произошла остановка сердечной деятельности. Реанимационные мероприятия не оказали эффекта. Зафиксирована биологическая смерть.

Диагноз заключительный клинический: внутриутробная микст-инфекция (цитомегаловирусная и герпетическая) с поражением сердца – ранний врожденный кардит, НК ПА и центральной нервной системы (субарахноидальное кровоизлияние, миотонический синдром, псевдотуберный синдром).

Ребенку проводилось расширенное молекулярно-генетическое исследование венозной крови, полученной путем пункции локтевой вены и стабилизированной 2,5% раствором ЭДТА в соотношении 10:1. Образцы геномной ДНК выделяли из лейкоцитарной фракции с использованием комплекса реагентов «SNP-экспресс» (производство компании «Литех», Москва), из плазмы крови с использованием комплекса реагентов «Рибо-сорб» (производство компаний «ИнтерЛабСервис», Москва), из аутопсийного материала (см. 3-ю обложку – рис. 1) (сердце, околоушная слюнная железа, головной мозг, почки) для верификации CMV и HSV с использованием комплекса реагентов «ДНК-сорб С» (производство компании «ИнтерЛабСервис», Москва).

Исследован аллельный полиморфизм: 159 С/Т в гене CD14, Arg753 Gln в гене TLR2 и Ser249Pro в гене TLR6.

Аmplификацию участков геномной ДНК, содержащих указанные полиморфизмы и ДНК CMV и HSV, проводили на основе технологии полимеразной цепной реакции (ПЦР). Идентификацию аллельных вариантов, обусловленных точечными нуклеотидными заменами, осуществляли с помощью аллель-специфической ПЦР с использованием наборов компании «Литех» (Москва), ДНК CMV и HSV – с использованием наборов компании «ИнтерЛабСервис» (Москва). После амплификации на термоциклере «Терцик» продукты амплификации, содержащие полиморфизмы, анализировали с помощью электрофореза в 3% агарозном геле. Фрагменты ДНК визуализировали в проходящем ультрафиолетовом свете после окрашивания геля бромистым

этидием в концентрации 1 мкг/мл. Продукты амплификации, содержащие ДНК возбудителей, анализировали с помощью флуоресцентного ПЦР-детектора «АЛА-1/4». При исследовании крови, биоптатов околоушной слюнной железы, почки, сердца, головного мозга методом ПЦР ДНК CMV и HSV не выявлена.

При молекулярно-генетическом исследовании выявлено гетерозиготное носительство мутантных аллелей генов CD14, TLR-2, TLR-6.

При исследовании цитокинового профиля выявлено повышение в сыворотке крови IL-1 $\beta$  и IL-2, а также отсутствие IL-4.

Можно предположить, что наличие мутации в кодирующих областях генов CD14, TLR-2, TLR-6 привело к аномальной активации MyD88 независимого пути трансдукции сигнала в клетке с повышением активности Т-хелперов 1 типа, продуцирующих большое количество IL-1 $\beta$  и IL-2. В результате активации клеточного иммунитета снизилась транскрипция вирусного генома и трансляция вирусной мРНК. Одновременно снизилась активность Т-хелперов 2 типа (отсутствие продукции противовоспалительного IL-4), что блокировало нейтрализацию вируса, комплементзависимый лизис и фагоцитоз. «Неполноценность» противовирусного иммунитета привела к фатальному исходу.

Таким образом, приведенное клиническое наблюдение свидетельствует о возможном влиянии полиморфизма генов системы врожденного иммунитета на тяжесть течения внутриутробной инфекции и прогноз, что требует дальнейшего изучения.

## Список литературы

1. Врожденные, перинатальные и неонатальные инфекции / Под ред. А. Гриноу, Дж. Осборна, Ш. Сазерленд: Пер. с англ. – М.: Медицина, 2000. – 288 с.
2. Заплатников А.Л., Корнева М.Ю., Корвина Н.А. Риск вертикального инфицирования и особенности течения неонатального периода у детей с внутриутробной инфекцией // Рус. мед. журн. – 2005. – № 13 (1). – С. 45-47.
3. Корнева М.Ю., Корвина Н.А., Заплатников А.Л. и др. Состояние здоровья внутриутробно инфицированных детей // Рос. вестн. перинатол. и педиатрии. – 2005. – № 2. – С.48-52.
4. Основы медицинской иммунологии / Под ред. А. Рабсон, А. Ройт, П. Делвз.: Пер. с англ. – М.: Бином, 2006. – 319 с.
5. Степаненко С.Ф. Снижение риска инфекционно-воспалительных заболеваний в системе «мать – новорожденный» // Сибирский медицинский журнал. – 2007. – Т. 22, № 3. – С. 102-115.

6. Dong N., Yao Y.M., Yu Y., Cao Y.J. Study on the correlation between CD14 gene polymorphism and T cell-mediated immunity in severely burned patients // *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* – 2009. – Vol. 8. – P. 617-620.
7. Chen J., Ng M.M., Chu J.J. Molecular profiling of T-helper immune genes during dengue virus infection// *Virology J.* – 2008. – Vol. 31. – P. 155-165.
8. Kang Y.A., Lee H.W., Kim Y.W., Han S.K., Shim Y.S., Yim J.J. Association between the -159C/T CD14 gene polymorphism and tuberculosis in a Korean population // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* – 2009. – Vol. 6. – P. 371-374.
9. Schröder N.W., Hermann C., Hamann L. High frequency of polymorphism Arg753Gln of the Toll-like receptor-2 gene detected by a novel allele-specific PCR // *J. Mol. Med.* – 2003. – Vol. 6. – P. 368-372.
10. Verra F., Luoni G., Calissano C., Troye-Blomberg M. IL4-589C/T polymorphism and IgE levels in severe malaria // *Acta Trop.* – 2004. – Vol. 2. – P. 205-209.
11. Verstraelen H., Verhelst R., Nuytinck L., Roelens K. Gene polymorphisms of Toll-like and related recognition receptors in relation to the vaginal carriage of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* // *Reprod. Immunol.* – 2009. – Vol. 2. – P. 163-173.

*поступила в редакцию 26.10.2009*

*принята к печати 05.11.2009*

**ИЛЛЮСТРАЦИИ К СТАТЬЕ «РОЛЬ АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ CD14, TLR2, TLR6 В РАЗВИТИИ ВНУТРИУТРОБНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСАМИ СЕМЕЙСТВА HERPESVIRIDAE» (АВТОРЫ: МИРОНЕНКО М.М., ДОЛГИХ Т.И.) (с. 151-154)**



**Рисунок 1. Макроскопическая картина сердца при раннем врожденном кардите**