

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ВОЛИНСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЛЕСІ УКРАЇНКИ
Кафедра фізіології людини і тварин

На правах рукопису

ЦЬОСЬ ВІКТОРІЯ ОЛЕКСАНДРІВНА

**ПЕРИНАТАЛЬНИЙ РИЗИК І ДІАГНОСТИКА ГЕРПЕТИЧНОЇ
ІНФЕКЦІЇ У НОВОНАРОДЖЕНИХ**

Спеціальність: 091 «Біологія та біохімія»

Освітньо-професійна програма «Лабораторна діагностика»

Робота на здобуття освітнього рівня «Магістр»

Науковий керівник

ЖУРАВЛЬОВ ОЛЕКСАНДР АНАТОЛІЙОВИЧ

кандидат біологічних наук, доцент

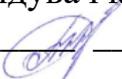
РЕКОМЕНДОВАНО ДО ЗАХИСТУ

Протокол № 2

Засідання кафедри фізіології
людини і тварин

від 21 листопада 2025 року

Завідувач кафедри

 доц. Т. Качинська

ЛУЦЬК-2025

АНОТАЦІЯ

Герпесвірусні інфекції є однією з провідних причин неонатальної захворюваності та уражень центральної нервової системи. Хоча неонатальний герпес зустрічається рідше, ніж вроджена CMV-інфекція, він характеризується високою летальністю та частими віддаленими неврологічними наслідками без своєчасної терапії. Для систем охорони здоров'я критичною є рання етіологічна верифікація та стандартизація алгоритмів ведення новонароджених.

В ході написання роботи нами було обстежено 20 новонароджених із підозрою/верифікованою HSV-інфекцією та 10 практично здорових новонароджених. Виконано ПЛР із релевантних субстратів, кількісну імунологію (IgA, IgM, IgG), проточно-цитометричний підрахунок CD4/CD8, визначення цитокінів (ІЛ-6, ІФН- α , TNF- α) методом ELISA, нейросонографію; оцінено гепатоспленомегалію за даними УЗД. Статистичний аналіз — t-критерій Стьюдента ($p < 0,05$).

Отримані результати показали, що ПЛР мало 70% позитивних, 10% сумнівних, 20% негативних результатів у клінічно відібраній групі. Порівняно з контролем у групі HSV виявлено: зниження CD4 ($1,47 \times 10^3$ проти $2,14 \times 10^3$ кл/мкл), помірне зниження CD8 (у межах вікової норми, зсув до нижньої половини діапазону), підвищення IgA ($0,35 \pm 0,03$ г/л проти $0,25 \pm 0,02$ г/л; $p < 0,05$), тенденцію до вищого загального IgM без статистичної значущості, істотно нижчий загальний IgG ($6,58 \pm 0,38$ проти $8,86 \pm 0,35$ г/л; $p < 0,001$). Рівні ІЛ-6 ($58,8 \pm 5,3$ пг/мл) та ІФН- α ($31,0 \pm 3,0$ пг/мл) були суттєво вищими, ніж у контролі ($9,2 \pm 0,9$ і $6,70,6$ пг/мл відповідно; $p < 0,001$).

Висновки. У новонароджених із HSV спостерігається виражена прозапальна цитокінемія, зниження CD4 та неспецифічні зміни імуноглобулінів із зменшенням загального IgG і помірним підвищенням IgA; нейросонографія/МРТ виявляє високу частку уражень ЦНС, а УЗД — часті ознаки дисемінації. Комбінування ПЛР з імунними та візуалізаційними маркерами підвищує своєчасність діагностики й дозволяє стратифікувати ризик тяжких наслідків. Практичне значення полягає у стандартизації раннього маршруту пацієнта і підстав для етіотропної/супресивної терапії.

Ключові слова: неонатальний герпес, HSV-1/HSV-2, ПЛР, нейросонографія, ІЛ-6, інтерферон- α , CD4/CD8.

ABSTRACT

Herpesvirus infections are one of the leading causes of neonatal morbidity and central nervous system damage. Although neonatal herpes is less common than congenital CMV infection, it is characterized by high mortality and frequent long-term neurological consequences without timely treatment. Early etiological verification and standardization of algorithms for managing newborns are critical for healthcare systems.

During the course of our work, we examined 20 newborns with suspected/verified HSV infection and 10 healthy newborns. PCR was performed on relevant substrates, quantitative immunology (IgA, IgM, IgG), flow cytometric CD4/CD8 counting, cytokine determination (IL-6, IFN- α , TNF- α) by ELISA, neurosonography; Hepatosplenomegaly was assessed based on ultrasound data. Statistical analysis was performed using Student's t-test ($p < 0.05$).

The results showed that PCR had 70% positive, 10% questionable, and 20% negative results in the clinically selected group. Compared to the control group, the HSV group showed: a decrease in CD4 (1.47×10^3 vs. 2.14×10^3 cells/ μ l), a moderate decrease in CD8 (within the age norm, shift to the lower half of the range), an increase in IgA (0.35 ± 0.03 g/L vs. 0.25 ± 0.02 g/L; $p < 0.05$), a tendency toward higher total IgM without statistical significance, and significantly lower total IgG (6.58 ± 0.38 vs. 8.86 ± 0.35 g/L; $p < 0.001$). The levels of IL-6 (58.8 ± 5.3 pg/mL) and IFN- α (31.0 ± 3.0 pg/mL) were significantly higher than in the control group (9.2 ± 0.9 and $6.70.6$ pg/mL, respectively; $p < 0.001$).

Conclusions. Newborns with HSV show pronounced pro-inflammatory cytokineemia, decreased CD4, and nonspecific changes in immunoglobulins with a decrease in total IgG and a moderate increase in IgA; neurosonography/MRI reveals a high proportion of CNS lesions, and ultrasound shows frequent signs of dissemination. Combining PCR with immune and imaging markers improves the timeliness of diagnosis and allows for the stratification of the risk of severe consequences. The practical significance lies in the standardization of the early patient pathway and the basis for etiotropic/suppressive therapy.

Keywords: neonatal herpes, HSV-1/HSV-2, PCR, neurosonography, IL-6, interferon- α , CD4/CD8.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДАНИХ	10
1.1. Вірусні герпесні захворювання	10
1.2. Гуморальні механізми протигерпетичної резистентності	14
1.3. Клінічні прояви неонатального герпесу	18
1.4. Лабораторна та функціональна діагностика HSV	19
РОЗДІЛ 2 КОНТИНГЕНТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	26
2.1. Контингент дослідження	26
2.2 Матеріали та методи	26
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	30
3.1. Аналіз показників крові у новонароджених з виявленим HSV.	30
3.2. Функціональна оцінка стану здоров'я новонароджених з HSV	41
ВИСНОВКИ	46
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	47

ВСТУП

Актуальність дослідження. Герпесвірусні інфекції людини – насамперед вірус простого герпесу (HSV-1/HSV-2) і цитомегаловірус (CMV) – належать до провідних етіологічних чинників перинатальної захворюваності та неонатальних уражень центральної нервової системи. Хоча неонатальний герпес трапляється відносно рідко, він асоціюється з високим ризиком летальності та тяжких віддалених неврологічних наслідків за відсутності своєчасної етіотропної терапії. На відміну від HSV, вроджена CMV-інфекція (сCMV) є найпоширенішою вродженою інфекцією в глобальному масштабі, формуючи суттєвий «тихий» тягар сенсоневральної приглухуватості, когнітивних і зорових порушень у дитячій популяції [42, 45].

За даними міжнародних оглядів і мета-аналізів, поширеність сCMV у новонароджених стабільно тримається на рівні приблизно 0,6–0,7%, із вищими показниками в країнах з низьким і середнім рівнем доходу; водночас оцінки захворюваності на неонатальний HSV у різних регіонах коливаються біля 10–16 випадків на 100 000 пологів, що підкреслює неоднорідність ризику та залежність показників від якості епіднадзора і доступності лабораторної діагностики [43, 55, 59].

Український контекст характеризується поєднанням обмеженої національної статистики з наявністю поодиноких клінічних повідомлень та оглядових праць, які засвідчують як клінічну значущість проблеми, так і нерівномірність доступу до високочутливих методів верифікації інфекції [4]. Додатковими модифікаторами перинатального ризику виступають частота латентних і реактивованих інфекцій у вагітних, рівень HSV-2-серопозитивності в окремих групах, коморбідні стани (зокрема ВІЛ-інфекція), а також соціально-демографічні чинники, що впливають на своєчасність звернення та маршрутизацію пацієнтів [2, 3]. За таких умов медична система стикається з двома взаємопов'язаними викликами: необхідністю раннього, чутливого та специфічного підтвердження етіології у новонароджених із

підозрою на HSV/CMV та потребою стандартизованих скринінгово-діагностичних алгоритмів, придатних до впровадження на рівні пологових стаціонарів і неонатальних центрів.

Ключовою методологічною віссю сучасної діагностики є молекулярні методи на основі ампліфікації нуклеїнових кислот (NAAT/ПЛР), які визнано еталонними для виявлення HSV-ДНК у лікворі, крові та зіскрібах із уражених ділянок у перші години/дні життя, а також для детекції CMV-ДНК у слині або сечі протягом перших 21 доби (з подальшим підтвердженням при необхідності), що принципово розмежує вроджене та перинатально/постнатально набуте інфікування [19, 30, 42].

Серологічні тести, попри свою інформативність у материнсько-дитячих парах для встановлення серостатусу та факту сероконверсії, мають сутнісні обмеження в неонатальному періоді через трансплацентарний перенос IgG і потенційно низьку чутливість IgM у ранні терміни. Комплементарними до лабораторних підходів виступають нейросонографія/МРТ із пошуком кальцифікатів, ознак енцефаліту чи лейкомаляції, офтальмологічне обстеження (хоріоретиніт), а також аудіологічний скринінг, що дозволяє стратифікувати ризик віддалених ускладнень і визначати показання до противірусної терапії та пролонгованого спостереження [2, 19, 42].

Принципова залежність клінічних результатів від часових параметрів підтверджена щодо обох основних нозологій. У разі неонатального HSV ранній старт внутрішньовенного ацикловіру асоціюється зі зниженням летальності при дисемінованих формах і кращими нейророзвитковими результатами при ураженні ЦНС; супресивна терапія впродовж шести місяців додатково зменшує частоту клінічних рецидивів та оптимізує неврологічний прогноз [1, 30].

Водночас у публічному здоров'ї та економіці охорони здоров'я накопичено переконливі свідчення щодо значного довгострокового економічного тягаря сCMV (втрата якості життя, витрати на слухові апарати/кохлеарну імплантацію, спеціальну педагогічну підтримку), що

формує раціональні підстави для моделювання сценаріїв раннього виявлення та оптимізації маршрутів медичної допомоги. Для України це означає перспективність поетапного впровадження пілотних регіональних реєстрів і програм раннього тестування, адаптації клінічних протоколів до реальних можливостей лабораторій (включно з контролем якості ПЛР-діагностики) та системну підготовку кадрів на перинатальному рівні [59].

Таким чином, наукова і практична актуальність теми зумовлена поєднанням високої клінічної значущості герпесвірусних інфекцій у неонатальному періоді, доказової переваги швидких молекулярних методів у ранньому «діагностичному вікні», необхідності стандартизувати й масштабувати скринінгово-діагностичні алгоритми з урахуванням ресурсних обмежень, а також потребою сформувати українську доказову базу щодо перинатального ризику, ефективності алгоритмів виявлення та варіантів клінічного ведення.

Метою дослідження є кількісна оцінка перинатального ризику HSV у новонароджених в Україні та валідація комбінованого алгоритму діагностики (молекулярні тести + серологія + інструментальні маркери) у ранні терміни життя.

Для досягнення мети передбачається виконати такі **завдання**:

1. Охарактеризувати профілі ризику з урахуванням материнських і неонатальних факторів;
2. Виявити стан показників гуморального та клітинного профілю у хворх на герпесвірусну інфекцію немовлят
3. Проаналізувати особливості цитокінового профілю у новонароджених.
4. Визначити чутливість/специфічність та прогностичну цінність окремих і комбінованих діагностичних індикаторів.

Об'єктом дослідження є перинатальні герпесвірусні інфекції (HSV) у новонароджених;

Предмет дослідження. Клініко-лабораторні й інструментальні маркери ранньої діагностики та прогностичні моделі перебігу.

Наукова новизна. Вперше здійснено комплексну оцінку перинатального ризику герпесвірусної інфекції із залученням молекулярних, імунологічних, цитокинових та інструментальних маркерів у єдиній вибірці новонароджених. Уточнено гуморальні особливості неонатальної імунної відповіді при HSV: показано, що підвищення IgM свідчить про активацію запальної реакції, але не має етіологічної специфічності; рівень IgG відображає переважно материнське походження антитіл; помірне підвищення IgA вказує на місцеву мукозну імунну відповідь новонародженого.

Вперше описано характерний клітинний профіль імунної дисфункції при неонатальному HSV: виявлено достовірне зниження CD4- і CD8-лімфоцитів, що відповідає транзиторній Т-лімпопенії, зумовленій активацією прозапальних цитокинів і тканинною міграцією Т-клітин.

Визначено специфічні цитокинові маркери активної інфекції: рівні IL-6 і IFN- α у 5–6 разів перевищують контроль, що свідчить про системну прозапальну реакцію вродженого імунітету та корелює з ризиком дисемінації і ураження ЦНС.

Показано діагностичну цінність нейровізуалізації (НСГ/МРТ) як обов'язкового доповнення лабораторного комплексу: патологічні зміни (гіперехогенність, кальцифікати) виявлено у 95% дітей, що підтверджує переважання нейро- та вісцеральних форм інфекції.

Практичне значення полягає в тому, що визначені параметри (CD4/CD8, IL-6, IFN- α , IgA, IgM) можуть бути використані як біологічні маркери інтенсивності вродженої та адаптивної імунної реакції у новонароджених для подальших досліджень вірус-опосередкованого імунного дисбалансу. Результати дослідження поглиблюють розуміння цитокинового каскаду при неонатальних вірусних інфекціях. Отримані дані про підвищення IL-6 та IFN- α можуть бути застосовані для побудови моделей запальної відповіді при системних вірусних ураженнях у ранньому онтогенезі.

Отримані результати можуть бути інтегровані у навчальний процес для курсів із біології розвитку, імунології, вірусології, патофізіології, неонатальної біології, слугуючи прикладом системного аналізу взаємодії патогену та організму у критичні періоди онтогенезу.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДАНИХ

1.1. Вірусні герпесні захворювання

Термін «герпес» має давньогрецьке походження (від ἕρπειν — «повзти»), що відображає характер «повзучих» шкірних уражень, описаних ще античними авторами [12].

Герпесвірусні інфекції належать до найпоширеніших у людській популяції: за сучасними глобальними оцінками, у 2016 р. близько 66,6% осіб віком 0–49 років мали інфекцію HSV-1 (будь-якої локалізації), а приблизно 13,2% осіб 15–49 років — HSV-2 [32].

Водночас значна частка інфікованих залишається недіагностованою через безсимптомний або малосимптомний перебіг, що підтверджують метааналізи для HSV-2 і оцінки поширеності генітального герпесу [45].

Клінічний спектр коливається від рецидивних уражень шкіри й слизових до тяжких ускладнень нервової системи: HSV-1-асоційований енцефаліт залишається провідною причиною спорадичного вірусного енцефаліту дорослих із високим ризиком неврологічних наслідків [17], а герпетичний кератит — однією з провідних інфекційних причин монокулярної сліпоти, особливо в розвинених країнах [19].

Перинатальна передача від матері до дитини найчастіше відбувається інтранатально й різко зростає за первинної материнської інфекції в пізні терміни вагітності (орієнтовно 30–50%), що зумовлює потребу у своєчасному скринінгу та профілактичній тактиці ведення вагітності й пологів [23].

Ключову роль у персистенції та рецидивуванні відіграють механізми імунної «евейжен» HSV (пригнічення інтерферонових шляхів, модулювання презентації антигенів, вплив на вроджений і набутий імунітет), що ускладнює контроль інфекції, особливо за імунодефіцитних станів [14, 51].

Герпесвірусна інфекція у клінічній практиці найчастіше представлена орофасціальними ураженнями, переважно зумовленими HSV-1, та генітальним герпесом, традиційно асоційованим із HSV-2, хоча внесок HSV-1 у генітальні форми зростає серед молодших когорт у Європі [61].

У Сполучених Штатах оцінене навантаження залишається суттєвим: за 2018 р. змодельовано близько 572 тис. нових випадків генітального герпесу серед осіб 14–49 років [19].

Для Європи мета-аналітичні дані свідчать, що поширеність HSV-2 серед дорослих у середньому близько 12% із тенденцією до щорічного зниження (~1% на календарний рік), тоді як частка HSV-1 у генітальному герпесі зростає [9, 61]. Водночас централізованого EU/EEA-нагляду за генітальним герпесом немає, що ускладнює прямі міжкраїнові порівняння [27].

В Україні загальнонаціональні популяційні оцінки обмежені; проте дослідження у вибірках підвищеного ризику демонструють високу частоту HSV-2 серед ВІЛ-позитивних вагітних [6], а клінічні спостереження у неонатальних центрах підтверджують клінічну значущість проблеми [3].

У глобальному вимірі, за оновленими оцінками ВООЗ, понад п'ята частина дорослих має генітальний герпес (переважно пов'язаний із HSV-2), що підкреслює сталий тягар інфекції для систем охорони здоров'я [36, 62, 63].

Сучасне уявлення про віруси простого герпесу сформувалося у середині ХХ ст., коли на підставі типоспецифічних серологічних тестів і подальших молекулярних досліджень було чітко розмежовано два антигенні типи — HSV-1 та HSV-2 (родина *Herpesviridae*, рід *Simplexvirus*).

Віріон HSV — це великий оболонковий dsDNA-вірус із ікосаедричним капсидом, білковим тегументом та ліпідною оболонкою, у якій занурені вірусні глікопротеїни; діаметр частинки загалом становить близько 150–200 нм (у середньому ≈ 186 нм без «шипів» і до ≈ 225 нм з ними) [35].

Упорядкована архітектоніка капсида та багатокомпонентний тегумент пояснюють як стабільність геному, так і транспортні/евейжн-властивості вірусу в інфікованій клітині.

Резервуар HSV — людина; передавання відбувається переважно при тісному контакті зі слизами/виділеннями або ураженими поверхнями під час активної реплікації, причому вірусне виділення можливе і без симптомів (асимптомна/субклінічна екскреція [19]).

Типоспецифічні відмінності мають клінічне значення: HSV-2 частіше спричиняє рецидиви та субклінічне виділення в генітальній ділянці, що підвищує ймовірність трансмісії [19].

Попри значну гомологію геномів і антигенну перехресність між HSV-1 і HSV-2, імунітет має лише частково протективний характер: типоспецифічні антитіла часто перехресно реагують, а епідеміологічні дані свідчать про зворотній зв'язок між наявністю HSV-1 і ризиком набуття HSV-2, але повного захисту не забезпечують.

Тропізм HSV є широким: первинна реплікація переважно відбувається в епітелії зі встановленням латентності у сенсорних нейронах; за певних умов можливі ураження центральної та периферичної нервової системи, печінки, ендотелію та окремих клітин крові. Показано також спроможність вірусу проникати через материнсько-плодовий інтерфейс і інфікувати тканини плаценти/плода, що має значення для перинатальної патології [26].

Первинна реплікація HSV відбувається у зоні входу (шкіра/слизові), після чого вірус ретроградно транспортується сенсорними аксонами до сом чутливих нейронів, де встановлює довготривалу латентність; у популяційному вимірі первинне інфікування HSV-1 частіше припадає на раннє дитинство, тоді як HSV-2 типово набувають після початку статевої активності [14, 66].

Для перинатальної медицини принципово важливо, що внутрішньоутробне інфікування можливе як трансплацентарно, так і висхідним шляхом; окрім того, переважна частка випадків неонатального герпесу виникає інтранатально, а постнатальне зараження трапляється рідше [60].

Молекулярна послідовність подій при первинній інфекції добре охарактеризована. Початкову адгезію забезпечують взаємодії оболонкових

глікопротеїнів із гепаран-сульфатами, а входження — зв'язування gD із рецепторами nestin-1 або HVEM, що ініціює злиття мембран; далі капсид транспортується до ядерної пори, де вивільняється дволанцюгова ДНК [14, 37].

У ядрі реалізується каскад експресії ІЕ/Е/Л-генів (immediate-early, early, late), після чого відбуваються складання нуклеокапсиду, ядерний егрес і вторинне охоплення оболонкою на мембранах апарата Гольджі/ендосом з наступним вивільненням віріонів [46].

Латентність характеризується персистенцією епісомної HSV-ДНК у нейронах трійчастого/крижового гангліїв з мінімальною транскрипційною активністю (зокрема LAT-транскрипти) і відсутністю продукції вірусних білків-мішеней для Т-клітин. Латентність не передбачає інтеграції HSV-ДНК у геном нейрона; рідкісні повідомлення про інтеграцію не змінюють загальної моделі епісомного існування [18]. Реактивація зумовлена нейроімунними стресорами (гарячка, УФ-вплив, імуносупресія) і веде до центрифугального транспорту віріонів в епітелій, що клінічно проявляється рецидивом або безсимптомним виділенням (asymptomatic shedding).

Взаємодія з імунною системою має двоїстий характер: інфекція активує продукцію інтерферонів і цитокінів, однак HSV кодує численні механізми імуноевейжену. Зокрема, ICP47 блокує транспортер TAP і гальмує завантаження пептидів на MHC-I, послаблюючи CD8⁺-відповідь; UL41/vhs деградує мРНК господаря та націлює cGAS, пригнічуючи шлях cGAS–STING; gC зв'язує C3b і перешкоджає активації комплементу; додатково описані модулі інтерференції з інтерфероновою сигналізацією [25]. Ці процеси пояснюють часту субклінічну екскрецію вірусу та здатність до рецидивування навіть за індукції адаптивної відповіді.

Критично важливо розмежовувати причинні зв'язки щодо онкогенезу: HSV-1/HSV-2 не є етіологією раку шийки матки, тоді як канцерогенність обумовлена персистенцією та інтеграцією ДНК високоризикових типів HPV (насамперед 16/18) з онкогенною перебудовою клітинного геному [55]. Отже,

гіпотези про безпосередню онкогенність HSV для шийки матки не підтверджені доказами рівня «причинність» (causality).

1.2. Гуморальні механізми протигерпетичної резистентності

Гуморальна відповідь при HSV включає три взаємодоповнювальні ланки: нейтралізацію віріонів антитілами, комплемент-опосередковану опсонізацію/лізис та антитілозалежну клітинно-опосередковану цитотоксичність (ADCC) проти інфікованих клітин. Нейтралізуючі IgG та IgM діють у позаклітинному середовищі, тоді як на слизових ключову роль відіграє секреторний IgA (sIgA), здатний блокувати адгезію та проникнення HSV; наявність IgG/IgA у цервіковагінальних секретах та їх нейтралізуюча активність продемонстровані в клінічних дослідженнях. Додатково, полімерні форми sIgA та sIgM характеризуються підвищеною авідністю й функціональною потужністю на бар'єрних поверхнях. Це підкреслює значення локального гуморального імунітету в обмеженні первинної інфекції та рецидивів [65].

Комплемент посилює опсонізацію та фагоцитоз і може безпосередньо лізувати віріони або клітини-мішені. Водночас HSV має спеціалізовані механізми уникнення: глікопротеїн gC зв'язує C3b і тим самим знижує активацію комплементу та чутливість до антитіл+комплемент-цитолізу; ці властивості підтверджені для HSV-1 і HSV-2 у класичних і сучасних роботах [34].

Другий ключовий ефектор — ADCC, що реалізується переважно NK-клітинами через FcγRIIIa/CD16 після зв'язування антитіл із вірусними антигенами на мембрані інфікованих клітин. Дані експериментів і оглядів для герпесвірусів демонструють ефективний лізис опсонізованих клітин і внесок ADCC у противірусний контроль; водночас HSV модулює цю вісь, зокрема через сигнальні шляхи рецептора HVEM і інші евазійні стратегії [24].

На рівні ухилення від антитіл вирішальне значення має поширення «клітина-в-клітину», яке мінімізує контакт віріонів із позаклітинними імуноглобулінами. Показано, що наявність антитіл, які інгібують саме цей режим передачі, асоціюється з меншою частотою рецидивів; водночас HSV експресує комплекс gE/gI із функціями «вірусного Fc-рецептора», що перешкоджає Fc-опосередкованим ефекторним механізмам антитіл [8].

Динаміка ізотипів при первинній і рецидивній інфекції неоднорідна. IgM з'являється відносно рано, але нерідко синхронно з початковим підйомом IgG; IgA може зростати на ранніх етапах, особливо при мукозальному залученні. При рецидивах переважають стійкі титри IgG, тоді як IgM підвищується непослідовно або взагалі не детектується; це обмежує діагностичну цінність IgM при підозрі на реактивацію. Відповідно, клінічні керівництва не рекомендують рутинне визначення HSV-IgM через низьку специфічність (у т.ч. позитивність при рецидивах) і відсутність типоспецифічності, натомість пріоритет надається типоспецифічним IgG-тестам у поєднанні з молекулярною діагностикою [19].

Практичний висновок для лабораторної інтерпретації: оцінка гуморальної відповіді при HSV повинна враховувати локус інфекції (мукозальний vs системний), режим поширення (вільні віріони vs клітина-в-клітину), час від початку симптомів та імуномодуляцію з боку вірусу (gC, gE/gI). У поєднанні з ПЛР/NAAT така стратифікація підвищує валідність рішень щодо діагностики і тактики ведення [19, 34].

Цитокинові мережі координують противірусну відповідь на HSV-1/HSV-2 від раннього вродженого етапу до формування адаптивного імунітету. Центральне місце належить інтерферонам: інтерферони I типу (IFN- α/β) швидко індукують противірусний стан клітин-мішеней, пригнічуючи транскрипцію/трансляцію вірусних генів і обмежуючи вихід віріонів; IFN- β демонструє виражену активність у моделі генітальної HSV-1-інфекції, а IFN-I також здатні блокувати вивільнення HSV із терміналей сенсорних аксонів під час реактивації [22].

Інтерферон γ (IFN- γ), у свою чергу, посилює антигенпрезентацію (зокрема крос-презентацію на MHC-I), активує макрофаги та НК-клітини й спрямовує відповідь у бік Th1-поляризації [28]. Паралельно з інтерфероновою віссю, прозапальні цитокіни підсилюють місцевий контроль інфекції. Інфікування епітеліальних клітин HSV-1 активує NF- κ B та індукує секрецію IL-6, IL-8 і TNF- α ; подібні патерни запалення фіксують і в органо-на-чипі моделі інфікованої людини шкіри. Макрофаги, праймовані IFN- γ , продукують TNF- α у відповідь на HSV-1/HSV-2, що підтримує ранню противірусну оборону, тоді як у мишачих моделях IFN- γ та TNF- α разом знижують тяжкість гострої інфекції.

Баланс прозапальної (Th1) та імунорегуляторної (Th2/Tr1) відповіді визначає клінічний перебіг. Клінічні дослідження при генітальному HSV-2 демонструють дисрегульовані IFN- γ -відповіді та підвищення IL-10 на різних стадіях хвороби; загалом у частини пацієнтів із активними або тяжкими проявами герпесу фіксують високі рівні IL-10.

Це корелює з уявленням, що надмірна регуляторна відповідь (наприклад, IL-10) може гальмувати клітинні механізми контролю та сприяти рецидивам.

IL-12 та IL-18 відіграють важливу роль у вродженому контролі HSV-2 (активація NK/Th1-осі), але у мишей вони не є критичними для формування набутої IFN- γ -опосередкованої захищеності; результати щодо терапевтичного введення рекомбінантних форм у моделях HSV залишаються непослідовними [33].

Натомість IL-2 послідовно підсилює ефекторні ланки через індукцію IFN- γ та активацію НК-клітин/цитотоксичних Т-клітин; у класичних роботах показано, що рекомбінантний IL-2 зменшує летальність при неонатальній HSV-інфекції та знижує вірусне навантаження/тяжкість у зостериформній моделі [52].

На перехресті гуморальної й клітинної відповіді стоїть антитілозалежна клітинно-опосередкована цитотоксичність (ADCC), насамперед через

Fc γ RIIIa/CD16 на NK-клітинах. Для герпесвірусів продемонстровано ефективний лізис опсонізованих клітин, а дані для HSV свідчать, що антитіла, здатні пригнічувати поширення «клітина-в-клітину», асоціюються з рідшими рецидивами [8].

Узагальнюючи, інтерферонова вісь (IFN-I/IFN- γ), TNF- α /IL-6-опосередковане запалення, IL-12/IL-18-залежна активація NK/Th1 та IL-2-підсилення ефекторів формують багаторівневу систему контролю HSV. Дисбаланс цієї мережі (переважання IL-10, ослаблення IFN- γ , порушення NK-функцій) асоціюється з тяжчим перебігом і рецидивами, що має враховуватися при інтерпретації імунологічних маркерів і плануванні терапевтичних стратегій.

Клітинна ланка є визначальною в контролі інфекції HSV-1/HSV-2: у ранній фазі домінують ефектори вродженого імунітету (моноцити/макрофаги, нейтрофіли, NK-клітини), тоді як адаптивний компонент забезпечують CD8⁺ цитотоксичні та CD4⁺ Т-лімфоцити, що координують і підсилюють локальний противірусний контроль [53].

Їхньою мішенню є насамперед клітини з активною реплікацією вірусу, які підлягають елімінації до завершення складання й егресу інфекційних віріонів.

Макрофаги розпізнають HSV через внутрішньоклітинні сенсори, продукують інтерферони/цитокіни та беруть участь у представленні антигену; сам вірус може інфікувати МФ і модулювати їхні функції у вогнищі ураження [28]. Активація IFN- γ перебудовує фагосому МФ і підсилює антигенпрезентацію та крос-презентацію — критично важливі процеси для запуску Т-клітинної відповіді.

NK-клітини забезпечують раннє знищення інфікованих клітин без класичної HLA-рестрикції, а також реалізують антитілозалежну клітинно-опосередковану цитотоксичність (ADCC) через Fc-рецептор CD16 [24]. Тип I інтерферони прямо підсилюють активацію/цитотоксичність NK-клітин під час вірусних інфекцій, що підвищує ефективність клітинного контролю HSV [31].

CD8⁺ Т-лімфоцити накопичуються у вогнищах реплікації та в сенсорних гангліях, де здійснюють імунний нагляд і гальмують реактивацію з латентності; ієрархія епітопів і сила відповіді варіюють залежно від HLA та умов праймінгу [59].

CD4⁺ Th1-клітини опосередковано й безпосередньо сприяють кліренсу HSV: вони підтримують CD8⁺-відповідь, продукують IFN- γ , що обмежує реплікацію вірусу, та активують моноклеарні фагоцити в осередку інфекції [64].

Узагальнюючи, ефективний антигерпетичний імунітет виникає з послідовної взаємодії: макрофагальне розпізнавання \rightarrow індукція IFN/цитокінів \rightarrow активація NK/ADCC \rightarrow розвиток CD8⁺ цитотоксичної та CD4⁺ Th1-координації. Порушення будь-якої ланки (напр., дефект відповіді IFN-I або знижена CD4⁺/CD8⁺ активність) асоціюється з тяжчим перебігом і частішою реактивацією HSV, що має прямі наслідки для діагностики та вибору імунотерапевтичних підходів.

1.3. Клінічні прояви неонатального герпесу

У клінічній практиці вирізняють первинну та рецидивну (вторинну) інфекцію HSV; за характером клінічних проявів описують латентний, локалізований, генералізований і змішаний перебіги. Первинна маніфестація зазвичай виникає після інкубації \approx 2–12 днів (іноді до 2–3 тижнів) і характеризується згрупованими везикулами на еритематозній основі з еволюцією до ерозій і кірочок; у частини хворих уражуються слизові оболонки (герпетичний стоматит/гінгівостоматит), кон'юнктива або рогівка. За неускладненого перебігу вогнища епітелізуються протягом \approx 7–10 днів без рубцювання [11].

Рецидиви зазвичай протікають з мінімальними системними симптомами; висипи локалізуються у зонах іннервації ураженого ганглію, а

при офтальмологічному залученні герпетичний кератит лишається провідною інфекційною причиною монокулярної сліпоти [7].

Серед ускладнених/нетипових форм трапляються екзема герпетикум (екзема Капоші), геморагічні та виразково-некротичні ураження; у хворих із ВІЛ тривалі мукокутанні виразки >1 місяця є умовою ВІЛ-асоційованого визначення СНІД [19].

Клінічні прояви у вагітних варіюють від безсимптомного перебігу до болю, дизурії, вагінальних виділень і висипів на слизових/шкірі статевих органів; ризик неонатального зараження найбільший за первинної генітальної інфекції у пізні терміни гестації. Для вертикальної передачі характерний розподіл: $\approx 85\%$ випадків набуваються інтранатально/перипартально, $\approx 10\%$ — постнатально, і $< 5\%$ — внутрішньоутробно [38].

Внутрішньоутробне інфікування асоціюється з ураженнями шкіри, хоріоретинітом та ураженнями ЦНС (мікро-/гідроцефалія тощо) [30].

Неонатальна герпесвірусна інфекція (приблизно 10 на 100 000 пологів у світі) має три класичні фенотипи, що варіюють за регіонами:

- 1) SEM — ураження шкіри/очей/рота ($\approx 45\%$);
- 2) ЦНС-форма з/без SEM ($\approx 30\%$);
- 3) дисемінована форма ($\approx 25\%$) [30, 45].

Без лікування смертність особливо висока: для дисемінованої форми — $\approx 85\text{--}90\%$, для енцефаліту — $\approx 50\%$; протівірусна терапія знижує летальність до $\sim 20\text{--}30\%$ (дисемінована) і $\sim 4\text{--}6\%$ (ЦНС), але ризик неврологічних наслідків, особливо при ЦНС-формі, лишається значним [21, 60].

1.4. Лабораторна та функціональна діагностика HSV

Класичний везикулярний герпес, який маніфестує болючими згрупованими пухирцями на еритематозній основі з подальшим ерозуванням і кіркоутворенням, у більшості випадків розпізнається клінічно; однак у зв'язку з частими атипovими або стерними формами, а також через різні прогностичні

наслідки за інфекції HSV-1 та HSV-2, провідні керівництва наполягають на обов'язковому лабораторному підтвердженні підозри (CDC, 2021). Тестом вибору для активних мукокутанних уражень є нуклеїново-кислотні тести (НААТ/ПЛР) із типуванням збудника (HSV-1/HSV-2); у валідованих систем повідомляють чутливість на рівні приблизно 90,9–100% при високій специфічності, тоді як культуральні методи істотно поступаються за чутливістю, особливо на етапі загосення або при рецидивах [19].

Цитологічні проби та пряма імуофлуоресценція сьогодні не рекомендуються через низькі діагностичні характеристики. У системних і нейроінфекційних сценаріях (менінгіт/енцефаліт, дисемінація) ПЛР є методом вибору для ліквору, тоді як «кров'яна ПЛР» при підозрі на генітальний герпес неінформативна і використовується переважно для виявлення дисемінації [19].

Серологічна діагностика має допоміжне, але важливе місце за відсутності уражень або для ретроспективної оцінки ризику, за умови застосування типоспецифічних тестів на основі глікопротеїнів G (gG1 для HSV-1, gG2 для HSV-2). Навіть у якісних gG-аналізах чутливість щодо HSV-2 коливається в межах приблизно 80–98%, а в разі недавнього інфікування можливі хибнонегативні результати, що обґрунтовує повторне тестування через 12 тижнів. Через ризик хибнопозитивних відповідей при низьких індекс-значеннях у частини комерційних ІФА доцільно використовувати підтвердні тести (Biokit, Western blot) [19]. Визначення IgM для HSV-1/HSV-2 у клінічній практиці не рекомендується: показник не є типоспецифічним, може позитивуватися при рецидивах і не розв'язує діагностичних завдань [19]. З огляду на значну поширеність HSV у популяції (понад 60% осіб молодших 50 років мають інфекцію HSV-1; близько 13% осіб віком 15–49 років інфіковані HSV-2), рутинний серологічний скринінг безсимптомних дорослих, у тому числі вагітних, не рекомендується, натомість доцільні таргетовані підходи у групах ризику та в парах, де один із партнерів має відомий HSV-статус [62, 63].

Діагностичні підходи у вагітних ґрунтуються на поєднанні клінічної оцінки та лабораторного підтвердження. За наявності уражень показано ПЛР-типсування з уражених поверхонь або культура, якщо NAAT недоступна; на початку пологів обов'язковими є детальний збір анамнезу щодо продрому і огляд на предмет активних уражень. За виявлення генітальних уражень у перипартумному періоді рекомендовано кесарів розтин для мінімізації інтранатальної передачі; рутинний серологічний скринінг HSV-2 в безсимптомних вагітних не показаний, натомість пріоритет має консультування щодо профілактики пізнього інфікування і тактика ведення вагітності та пологів [19].

У контексті пренатального моніторингу за відомих факторів ризику доцільні планові інструментальні обстеження на визначених термінах гестації з оцінкою фето-плацентарної перфузії (за потреби — доплерометрія), але вони виконують роль супровідних методів стратифікації ризику, а не замінюють лабораторну верифікацію HSV.

Неонатальна діагностика потребує окремого алгоритму, оскільки клініка може бути неспецифічною та швидко прогресувати. Показаннями до активного пошуку HSV у немовляти є лихоманка або сепсис-подібний стан без бактеріального підтвердження, судоми, ураження шкіри/очей/рота, ознаки гепатиту, тромбоцитопенія, а також перинатальна експозиція (первинна або активна рецидивна генітальна інфекція матері у перипартумному періоді) [54]. Зразки для ПЛР із поверхонь (кон'юнктива, ротоглотка, носоглотка, пупок, періанальна ділянка; інколи — сеча) доцільно відбирати у проміжок 24–48 год життя для мінімізації ризику контамінації материнськими виділеннями; за підозри на ураження ЦНС «золотим стандартом» є ПЛР HSV у лікворі, і при негативному першому результаті за збереженої високої клінічної підозри аналіз повторюють протягом першого тижня, не затримуючи ініціацію ацикловіру. Визначення HSV-ДНК у крові може бути корисним маркером дисемінації, проте не повинне самостійно визначати тривалість терапії [47]. У клінічній практиці швидко поширилися мультиплексні панелі для

менінгіту/енцефаліту (ME-панелі), які дають можливість одночасно протестувати низку бактеріальних і вірусних агентів, включно з HSV-1/HSV-2, упродовж години; попри високу специфічність і загалом добру узгодженість із таргетною ПЛР, чутливість для окремих цілей може бути нижчою, а відтак негативний результат ME-панелі не виключає HSV-енцефаліт і потребує повторної цільової ПЛР за збереженої клінічної підозри [40, 44]. У позанеонатальному віці діагностика герпетичного енцефаліту також спирається на ПЛР ліквору, для якої описують чутливість близьку до 98% і специфічність близько 94%; при сумнівному ранньому негативному результаті рекомендовано повторити дослідження через 3–7 діб.

З огляду на широту перинатальної диференційної діагностики важливо враховувати інші герпесвіруси, насамперед вроджену цитомегаловірусну інфекцію (сCMV). Її можна підтвердити лише у разі виявлення вірусу в перші 21 добу життя; стандартом є ПЛР зі слини з підтвердженням у сечі, тоді як серологія IgM/IgG не використовується для верифікації сCMV. У багатьох юрисдикціях впроваджують підходи «hearing-targeted» скринінгу — тестування на сCMV новонароджених, які не пройшли первинний слуховий скринінг у перші три тижні життя [19, 56]. Усе це відображає перехід акцентів діагностики від ізольованих серологічних стратегій до швидких та височутливих методів прямої детекції вірусу.

Глобальний тягар HSV, висока частка безсимптомних форм і часте безсимптомне виділення зумовлюють імовірність хибнопозитивних серологічних результатів у низькоризикових пацієнтів і, відповідно, підтримують рекомендації щодо відмови від рутинного серологічного скринінгу на користь таргетованого застосування NAAT/ПЛР із клінічно релевантних субстратів. У перинатальній практиці ключовими залишаються правильний вибір і час відбору зразків, неухильне дотримання алгоритмів повторного тестування при високій підозрі та інтеграція лабораторних даних із клінічною оцінкою і візуалізацією; саме така мультидисциплінарна

траєкторія максимізує імовірність раннього виявлення, своєчасного лікування та профілактики найтяжчих наслідків герпесвірусної інфекції [19, 62, 63].

Таким чином, герпесвірусні інфекції людини, зокрема віруси простого герпесу типів 1 і 2 (HSV-1, HSV-2), належать до найпоширеніших у світі збудників, що характеризуються здатністю до довічної персистенції, латентності та рецидивування. За даними ВООЗ, понад дві третини населення інфіковані HSV-1, а близько 13 % дорослого населення — HSV-2. Особливістю герпесвірусів є поєднання стабільної геномної організації з високою біологічною адаптивністю та здатністю до імуноевейжену. Резервуаром і джерелом інфекції є людина; передача відбувається при контакті зі слизовими оболонками або біологічними секретами, а також інтранатально — під час пологів, коли вірус проникає через мікротравми шкіри та слизових новонародженого.

HSV-1 переважно уражає епітелій обличчя, ротової порожнини й нервову тканину, тоді як HSV-2 частіше асоційований із аногенітальною локалізацією та рецидивами. Обидва серотипи мають значний ступінь генетичної гомології, проте типоспецифічний імунітет є неповним: наявність антитіл до HSV-1 знижує ризик набуття HSV-2, але не запобігає інфікуванню. Завдяки широкому клітинному тропізму вірус здатний проникати у різні тканини — епітелій, ендотелій, нейрони, макрофаги, гепатоцити й навіть клітини плаценти, що зумовлює його потенціал вертикальної передачі.

Біологічна успішність HSV зумовлена розвиненими механізмами ухилення від імунного контролю. Вірусні білки пригнічують інтерферонову відповідь, блокують транспорт антигенних пептидів через TAP (білок ICP47), взаємодіють із компонентами комплементу (gC-C3b), зв'язують Fc-фрагменти антитіл через глікопротеїни gE/gI та інгібують шлях cGAS-STING, перешкоджаючи активації вродженого імунітету. Це пояснює здатність HSV до довготривалої персистенції й частих реактивацій навіть за наявності адаптивної відповіді.

Імунна реакція на HSV є багаторівневою. На початкових етапах інфекції активується врожденна протиінфекційна відповідь: рецептори розпізнавання патернів (TLR, cGAS, RIG-I) ініціюють секрецію інтерферонів I типу (IFN- α , IFN- β), які створюють противірусний стан у клітинах-мішенях і пригнічують реплікацію вірусу. Далі активується продукція цитокінів IL-6, TNF- α , IL-12 і IL-18, що координують запальну реакцію, стимулюють макрофаги, NK-клітини й індукують секрецію IFN- γ — ключового медіатора Th1-відповіді.

Гуморальна ланка представлена антитілами класів IgM, IgG і IgA. IgM з'являється на ранній стадії як маркер первинної інфекції, IgG забезпечує тривалий системний захист, а секреторний IgA блокує адгезію вірусів до епітелію слизових оболонок. Комплемент і антитілозалежна клітинно-опосередкована цитотоксичність (ADCC) доповнюють противірусний ефект, активуючи фагоцитоз і лізис інфікованих клітин. HSV, у свою чергу, нейтралізує ці механізми за допомогою білків gC, gE/gI та білкових інгібіторів інтерферонового шляху.

Клітинна імунна відповідь відіграє вирішальну роль у контролі інфекції. Макрофаги та дендритні клітини розпізнають вірус, продукують інтерферони й цитокіни, ініціюючи активацію NK-клітин. NK-клітини знищують інфіковані клітини без HLA-рестрикції, тоді як CD8⁺ цитотоксичні лімфоцити елімінують клітини з активною реплікацією HSV, запобігаючи поширенню інфекції. CD4⁺ Th1-клітини підтримують CD8⁺-ефектори та стимулюють макрофаги через секрецію IFN- γ . Порушення будь-якої ланки цього каскаду — від інтерферонової активації до CD4⁺/CD8⁺-координації — асоціюється з тяжчим перебігом інфекції, підвищенням частоти реактивацій і дисемінацією вірусу.

Перинатальні форми HSV становлять окремий біологічний та медико-соціальний феномен. Найчастіше інфікування новонародженого відбувається інтранатально, рідше — трансплацентарно або постнатально. Висока сприйнятливність неонатальної імунної системи, обмежена функціональність Т-клітин і низький рівень власних IgA створюють передумови для системної

інфекції. У таких випадках спостерігають активацію цитокінового каскаду, транзиторну Т-лімфопенію, підвищення ІЛ-6 та ІFN- α , що відображає спробу незрілої імунної системи відновити противірусний баланс.

Отже, герпесвіруси людини є класичним прикладом високоадаптованих патогенів, що реалізують довічну персистенцію через складну взаємодію з клітинними й гуморальними ланками імунітету. Їхня біологічна поведінка — від латентності до реактивації — визначається балансом між противірусною активністю господаря та вірусними механізмами імуноевейжену. Розуміння цих процесів має ключове значення для побудови сучасних моделей імунопатогенезу, удосконалення діагностичних підходів і прогнозування ризику перинатального інфікування.

РОЗДІЛ 2

КОНТИНГЕНТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Контингент дослідження

Вивчення особливостей прояву HSV здійснювалося серед новонароджених (до 28 діб життя), які перебували у відділеннях інтенсивної терапії та неонатології. В ході експерименту біло сформовано 2 групи: експериментальна та контрольна. Група 1 (експериментальна) — новонароджені з підозрою/верифікованою герпесвірусною інфекцією (HSV) за клініко-лабораторними критеріями (20 осіб). Критеріями включення в експериментальну групу були лихоманка без джерела, висип/везикули, судоми/летаргія, підвищені трансамінази, підозра на ураження ЦНС або печінки, позитивні результати NAAT/ПЛР будь-якого клінічно релевантного зразка на HSV. Критерії виключення: критичні вроджені вади, підтверджений бактеріальний сепсис без доказів вірусної етіології.

Група 2 (контрольна) — практично здорові новонароджені без клінічних ознак інфекції, що відповідали гестаційному віку, статі та масі тіла основної групи (10 осіб).

Дослідження проводили згідно з Гельсінською декларацією, після отримання інформованої згоди батьків/опікунів.

2.2 Матеріали та методи

Усім новонародженим виконували уніфікований протокол забору біоматеріалу з мінімізацією сумарного об'єму крові ($\leq 1\%$ маси тіла/добу): венозна кров у пробірки EDTA (для ПЛР і проточної цитометрії) та у «сухі»/із активатором згортання (для біохімії, імуноглобулінів і цитокінів); за показаннями — спинномозкова рідина (СМР) до початку терапії; поверхневі мазки ротоглотки, кон'юнктив, пупка/уражень шкіри та прямої кишки

флюкованими тампонами у транспортному середовищі на 24–48-й годині життя; сеча (для CMV) та зішкріби з везикул. Зберігали/транспортували за температури $+2...+8\text{ }^{\circ}\text{C} \leq 24$ год або при $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ (уникали повторних циклів замороження-відтавання).

Етіологічна верифікація (ПЛР HSV/CMV/HHV-6). Нуклеїнові кислоти виділяли на автоматичному екстракторі (Thermo KingFisher Flex) з подальшою кількісною ампліфікацією у режимі реального часу на ампліфікаторі Applied Biosystems QuantStudio 5/ABI 7500 Fast із зондами TaqMan та внутрішнім контролем інгібіції. Для СМР застосовували набори з LOD ≤ 100 копій/мл; кожну серію супроводжували позитивним/негативним контролюями й NTC. Результат подавали як «виявлено/не виявлено/сумнівно»; для крові/СМР — додатково у копіях/мл (\log_{10}). ПЛР(+) у СМР трактували як ознаку ураження ЦНС, ПЛР(+) у крові за відповідної клініки — як дисемінацію; ізольовані позитивні поверхневі мазки підтверджували повторним забором і клініко-лабораторною кореляцією.

Серологічні маркери HSV (IgM/IgG). Визначали типоспецифічні антитіла до gG-1/gG-2 методом хемілюмінесцентного імунного аналізу на автоматі Abbott ARCHITECT i2000SR (калібратори й дві рівні контролю щосерійно; інтерференції гетерофільних антитіл пригнічували блокуючими реагентами за потреби). IgM(+) розцінювали як ознаку недавньої відповіді, IgG у неонатів — переважно материнського походження; серологія використовувалася допоміжно до NAAT.

Загальні імуноглобуліни (IgA, IgM, IgG; г/л). Кількісно вимірювали нефелометрично на Siemens BN ProSpec або турбідиметрично на біохімічному аналізаторі Roche cobas c311 з трасованістю до міжнародних стандартів WHO; результати подавали у г/л з урахуванням гестаційного віку.

Клітинний імунний профіль (CD4, CD8; кл/мкл). Проводили проточно-цитометрично на BD FACSCanto II/Beckman Coulter Navios за панеллю CD45-CD3-CD4-CD8. Абсолютні значення отримували «single-platform» за допомогою BD TruCount-мікросфер або розраховували від абсолютної

лімфоцитарної кількості (геманалізатор Sysmex XN-1000). Щоденно виконували контроль якості (цитометричні мікросфери, компенсації, ізотип-контролі). Інтерпретацію здійснювали з урахуванням широких референсів неонатального періоду та співвідношення CD4/CD8.

Цитокиновий профіль (ІЛ-6, ІФН- α , TNF- α ; пг/мл). Визначали сендвіч-ELISA на фотометрі BioTek ELx800/Thermo Multiskan FC з автоматичною мийкою BioTek ELx50. Будували 5–7-точкові калібрувальні криві ($R^2 \geq 0,99$), межі виявлення — у низьких пг/мл. Плазму/сироватку центрифугували протягом 60 хв від забору, зберігали при -70°C ; гемоліз/ліпемію фіксували та виключали з аналізу. Підвищення ІЛ-6 і TNF- α трактували як маркери системної запальної відповіді, ІФН- α — як показник протівірусної активації; усі показники інтерпретували лише в контексті ПЛР і клініки.

Дослідження СМР (білок, глюкоза, плеоцитоз та ПЛР HSV). Загальноклінічні показники виконували на автоматичному аналізаторі Beckman AU-серії/Roche cobas c311 (білок — метод пірогалол-червоного; глюкоза — глюкозооксидазний/гексокіназний метод), клітинний склад — у камері Бюркера або на автоматичному підрахунку Sysmex XN Body Fluid; паралельно проводили ПЛР HSV, як описано вище. Плеоцитоз і гіперпротеїнорахія підтримували діагноз менінгоенцефаліту, але вирішальною вважалась NAAT у СМР.

Нейровізуалізація. Нейросонографію здійснювали через велике тім'ячко на апараті GE LOGIQ P9/Philips Affiniti (датчик 5–8 МГц) у коронарних/сагітальних площинах з оцінкою перивентрикулярної ехогенності, вентрикуліту, геморагій, кістозно-некротичних змін. Магнітно-резонансну томографію проводили за клінічними показами на Siemens MAGNETOM Avanto 1,5 T (послідовності T1, T2, FLAIR, DWI; за потреби SWI) для верифікації ураження скронево-інсулярних ділянок і таламусів.

УЗД органів черевної порожнини. Виконували конвексним датчиком 5–9 МГц на GE LOGIQ/Philips Affiniti з вимірюванням довжини печінки/селезінки за перцентильними таблицями для неонатів та оцінкою

ехоструктури; фіксували гепатоспленомегалію як ознаку можливого дисемінованого процесу.

Контроль якості та безпека. Усі аналітичні серії супроводжували двома рівнями внутрішніх контролів, брали участь у зовнішніх програмах (EQA/RIQAS/INSTAND), забезпечували простежуваність калібрувань до міжнародних стандартів. Документували SOP для пре-/аналітичного/пост-аналітичного етапів, а також час забору зразків відносно старту терапії. Результати інтегрували у клінічний алгоритм: ПЛР(+) у СМР — підтвердження ЦНС-форми; ПЛР(+) у крові з цитокінемією/органною дисфункцією — дисемінація; ізольоване поверхнєве ПЛР(+) — SEM-форма з обов'язковим моніторингом; серологія та загальні імуноглобуліни — допоміжні маркери; CD4/CD8 і цитокіни — показники імунної відповіді та тяжкості.

Статистичну обробку результатів здійснювали в програмі MS Office 2013 з використанням t-критерію Стьюдента. Рівень значущості (p) визначали за таблицями розподілу Стьюдента з відповідними ступенями свободи. Статистично достовірною вважалася різниця міжгрупових значень при ($p < 0,05$).

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Аналіз показників крові у новонароджених з виявленим HSV.

Аналіз даних ПЛР скринінгу серед досліджуваних новонароджених показав, що у 70 % осіб було підтверджено захворювання на герпесвірусну інфекцію, у 10 % – результат виявився сумнівним, а в 20 % – був відсутній позитивний результат за даними результатів плазми крові (рис. 3.1).

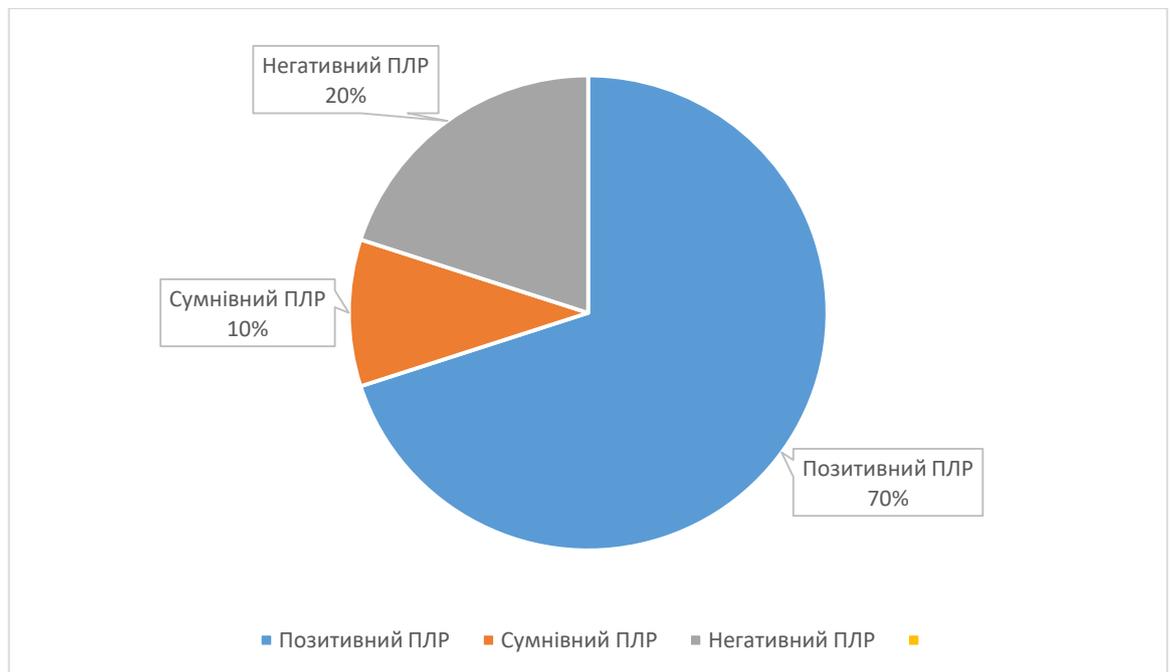


Рис. 3.1. Співвідношення позитивних/сумнівних/негативних тестів ПЛР серед хворих новонароджених.

Таке співвідношення найкраще узгоджується зі спеціально відібраною клінічною когортою з високою передтестовою імовірністю HSV (наявні свіжі везикули/ерозії, правильний вибір локусу та часу забору). Для таких ситуацій ПЛР/NAAT є тестом вибору: рекомендації CDC прямо вказують, що NAAT із уражень — найчутливіший метод (зазвичай близько 91–100% чутливості із дуже високою специфічністю) і значно перевершує вірусну культуру,

чутливість якої швидко падає у процесі загоєння висипу. Водночас негативний результат при старих або відсутніх ураженнях не виключає HSV через інтермітуюче виділення вірусу. Виявлені нами 10% “сумнівних” (пограничні значення/Ct поблизу порогу) тестів зазвичай виникають при низькому вірусному навантаженні (пізні або підгоєні ураження, неідеальний забір, ефект лікування), або при преаналітичних похибках. Стандартний підхід в таких випадках — повторний забір через 24–48 год або альтернативний локус; для підтвердження важливі типування (HSV-1/HSV-2) і, за можливості, кількісний показник/Ct [58].

За наявності клінічної підозри виявлені 20% негативних результатів не виключають інфекцію: якість і тип матеріалу, фаза хвороби та час від появи симптомів критично впливають на чутливість NAAT та вимагає перезабору матеріалу (інший локус) для повторного аналізу.

У групі хворих новонароджених абсолютні CD4-лімфоцити коливалися в межах 814–1980 кл/мкл. Така картина відповідає зниженню абсолютних CD4 відносно очікуваних для перших тижнів життя значень (у цьому віці CD4 зазвичай вищі, ніж у дорослих, із медіанами в діапазоні $2,0\text{--}3,5 \times 10^3$ кл/мкл). Тобто такі значення вказують на лімфоцитопенію CD4-підмножини в когорті.

Ймовірними чинниками зниження можуть бути активна вірусна інфекція HSV з системною запальною відповіддю та транзиторною міграцією/«виходом» лімфоцитів із крові в тканини; гіпервідповідь на стрес/сепсис або ко-інфекції (особливо у дисемінованих/ЦНС-варіантах), що супроводжуються відносним або абсолютним падінням лімфоцитів; гестаційний вік і маса при народженні (недоношені мають нижчі абсолютні лімфоцитарні індекси); час забору (фізіологічні коливання у перші дні/тижні життя), інфузійна терапія, кортикостероїди та ін.

Отримана нами картина узгоджується з відомими віковими нормами: у доношених новонароджених референтні абсолютні значення CD4 зазвичай вищі від дорослих і часто лежать у діапазоні близько $2,0\text{--}3,5 \times 10^3$ кл/мкл [57]. У контрольної групи дітей отримані показники ($2,14 \times 10^3$ кл/мкл) добре

вписуються в ці міжнародні діапазони, тоді як середнє у групі хворих на HSV зсунуте до $1,47 \times 10^3$ кл/мкл (рис. 3.2).

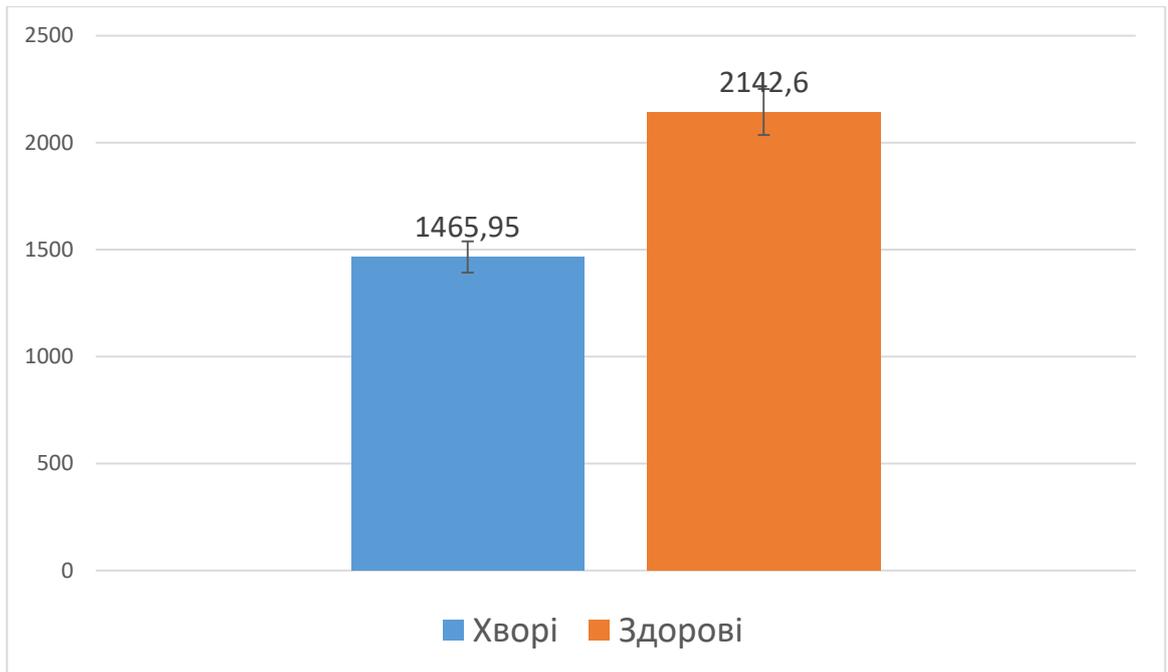


Рис. 3.2. Показники абсолютних значень CD4 клітин у досліджуваних з HSV-інфекцією та здорових новонароджених.

Зниження CD4 у хворих новонароджених є біологічно виправданим: системні вірусні інфекції раннього неонатального періоду супроводжуються лімфопенією за рахунок міграції Т-клітин у тканини запалення, апоптозу під впливом прозапальних цитокінів (IL-6, TNF- α) і «стресової» нейроендокринної відповіді. Ці зміни описані для тяжких інфекцій у немовлят і неодноразово пов'язувалися зі зниженням CD4/зміною співвідношення CD4/CD8 [5].

Для неонатального HSV специфічні імунні особливості включають слабшу Th1-відповідь і схильність до генералізації, що також може проявлятися нижчими циркулюючими CD4 на піку хвороби [38]. Додаткові фактори, здатні посилювати різницю між групами, — гестаційний вік і маса при народженні (у недоношених абсолютні лімфоцитарні індекси нижчі), час забору крові (динаміка перших днів життя), ко-інфекції/сепсис та інтенсивна терапія (інфузії, кортикостероїди).

У підсумку, у нашій вибірці спостерігається статистично значуще та клінічно суттєве зниження CD4 у немовлят з HSV порівняно зі здоровими ($p < 0,05$), що узгоджується з даними іноземних робіт про вікові референси та про інфекційно-зумовлену транзиторну Т-лімфопенію в неонатальному періоді.

Аналіз отриманих з плазми у групі хворих новонароджених абсолютної кількості CD8-лімфоцити показав, що їх середнє значення становить $674,05 \pm 43,51$ кл/мкл, тоді як опубліковані педіатричні інтервали для немовлят (метод проточної цитометрії) свідчать, що у період 1 тиждень–2 місяці CD8 зазвичай перебуває в межах 400–1700 кл/мкл (для «неонатів» одразу після народження — 200–1900 кл/мкл. Наші показники повністю вкладаються в цей коридор і розташовані в його нижній половині (середнє $0,67 \times 10^3$ /мкл) — тобто істотної CD8-лімфоцитопенії за віком не виявлено, але є тенденція до «помірно нижчих» значень відносно середини інтервалу (рис. 3.3)

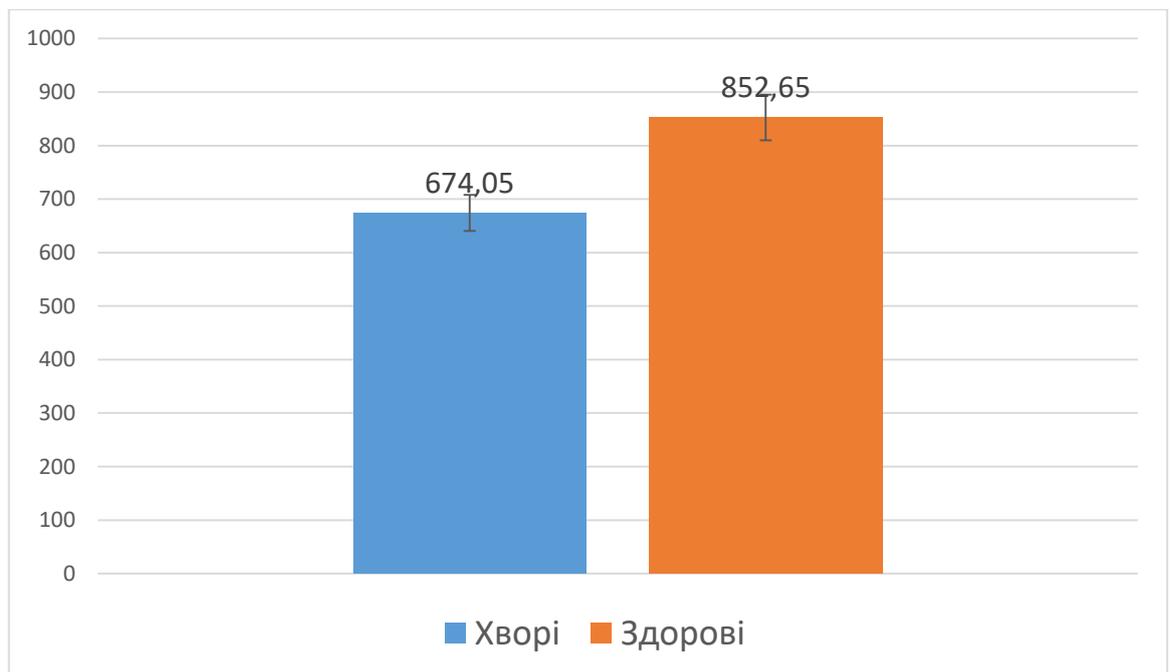


Рис. 3.3. Показники абсолютних значень CD8 клітин у досліджуваних з HSV-інфекцією та здорових новонароджених.

Для неонатального HSV численні огляди підкреслюють центральну роль CD8-Т-клітин у контролі реплікації та рецидивів, але у новонароджених

домінує функціональна незрілість цього пулу: повільніша диференціація в ефекторні цитотоксичні клітини та слабше праймування на ранніх етапах відповіді. Це означає, що кількість CD8 у крові може бути «нормальною» за віком (що відмічено у нашій експериментальній групі), але функціональна активність (кілерна, продукція цитокінів) — нижчою, що сприяє тяжчому перебігу.

Порівняння даних, отриманих з крові здорових дітей та хворих на HSV показало, що обидва середні значення лежать у межах вікових інтервалів для раннього неонатального періоду (400–1700/1900 кл/мкл, проте у групи з HSV показник систематично зсунений у нижню половину цього діапазону [10, 57]. Такий зсув є біологічно правдоподібним: у новонароджених на тлі системної вірусної інфекції можливі транзиторні зміни абсолютних лімфоцитарних показників через міграцію Т-клітин у тканини, апоптоз під дією прозапальних цитокінів (IL-6, TNF- α) та стресову нейроендокринну відповідь.

Додатково, для неонатального періоду характерна функціональна незрілість CD8-Т-клітин — повільніша диференціація в ефекторні цитотоксичні клітини і слабше праймування, що описано у моделях HSV та оглядових роботах; отже, навіть «нормальна» за віком кількість CD8 може не відображати повноцінної противірусної ефекторної активності [5, 29]. На показники також впливають гестаційний вік/маса при народженні (передчасно народжені мають нижчі абсолютні значення) та час забору у перші тижні життя [10]. У підсумку, у новонароджених із HSV спостерігається статистично значуще та клінічно помірно-виражене зниження CD8 порівняно зі здоровими, що узгоджується з міжнародними віковими референсами й патофізіологією неонатальної імунної відповіді [38].

Аналіз показників сироваткового IgA у групі новонароджених із HSV показав, що середній його рівень становив $0,35 \pm 0,03$ г/л, а у здорових новонароджених — $0,25 \pm 0,02$ г/л, що є статистично ($p < 0,05$) достовірною різницею значень між досліджуваними групами (рис. 3.4).

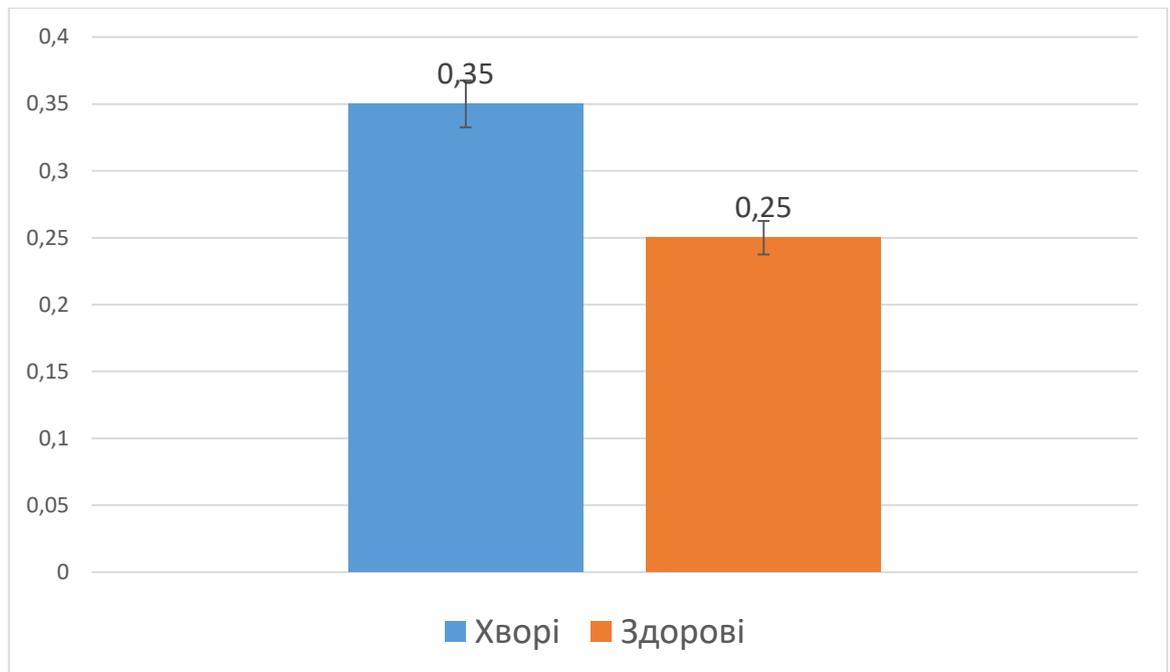


Рис. 3.4. Показники сироваткового IgA у досліджуваних з HSV-інфекцією та здорових новонароджених.

Обидва групові середні лежать у межах або біля верхньої межі типових неонатальних референтів для перших тижнів життя (орієнтовно 0,0–0,30 г/л), причому значення у групі HSV систематично вищі. Це узгоджується з відомими фізіологічними принципами: IgA не проходить через плаценту, отже, сироватковий IgA у новонародженого відображає власну продукцію [50], тоді як основний захист слизових у перинатальному періоді забезпечує материнський секреторний IgA у грудному молоці, який діє локально в кишці й не підвищує сироватковий IgA [16].

Для HSV показано, що серологічні маркери (у т.ч. HSV-специфічний IgA) є варіабельними і мають обмежену діагностичну цінність на відміну від НААТ/ПЛР, а специфічний IgA може бути відсутній або з'являтися транзиторно, особливо в неонатів [38]. Тому виявлене нами помірне підвищення загального IgA у групі HSV слід трактувати як неспецифічний маркер активації В-клітин/мукозного антигенного стимулу, а не як доказ HSV-етиології.

Таким чином, у новонароджених із HSV сироватковий IgA статистично вищий, ніж у здорових ($p < 0,05$), однак підвищення помірне, розташоване в межах або біля верхньої межі вікової норми й має неспецифічний характер.

Аналіз даних сироваткового IgM у новонароджених показав, що у 100% зразків відмічається перевищення неонатальної верхньої межі 0,40 г/л, що свідчить про виражену гіпер-IgM-поліклональна відповідь.

З патофізіологічного погляду в новонароджених IgM не проходить через плаценту, тому його підвищення відображає власну неонатальну імунну відповідь; підвищений IgM у плода/новонародженого традиційно розглядають як маркер можливої внутрішньоутробної інфекції (у класичних роботах підвищення $>0,20$ – $0,40$ г/л у пуповинній крові асоціювалося з TORCH-інфекціями) [32]. Водночас загальний IgM є неспецифічним і сам по собі не ідентифікує HSV.

Таким чином, зафіксоване широке підвищення загального IgM варто розглядати як індикатор запального/інфекційного процесу, який потребує етіологічної верифікації HSV саме ПЛР-методами та, за потреби, комплексної TORCH-оцінки. [38, 54].

Серед здорових доношених новонароджених IgM зазвичай дуже низький (пуповинна кров $0,06$ – $0,24$ г/л; неонат $0,05$ – $0,40$ г/л), а перевищення $>0,40$ г/л у перші години/дні життя трактують як сигнал можливої внутрішньоутробної інфекції, але без специфікації збудника. У контексті неонатального HSV неодноразово підкреслено, що антитіла (включно з IgM) ненадійні як діагностичні маркери, тоді як ПЛР з відповідної матриці (особливо ЦСР при ЦНС-формі) є ключем до виявлення HSV [38, 54].

Порівняння даних хворих дітей з контрольною групою здорових новонароджених свідчить про наявність достовірної ($p < 0,05$) різниці у рівні IgM – $2,55 \pm 0,29$ г/л проти $0,60 \pm 0,04$ г/л (рис. 3.5).

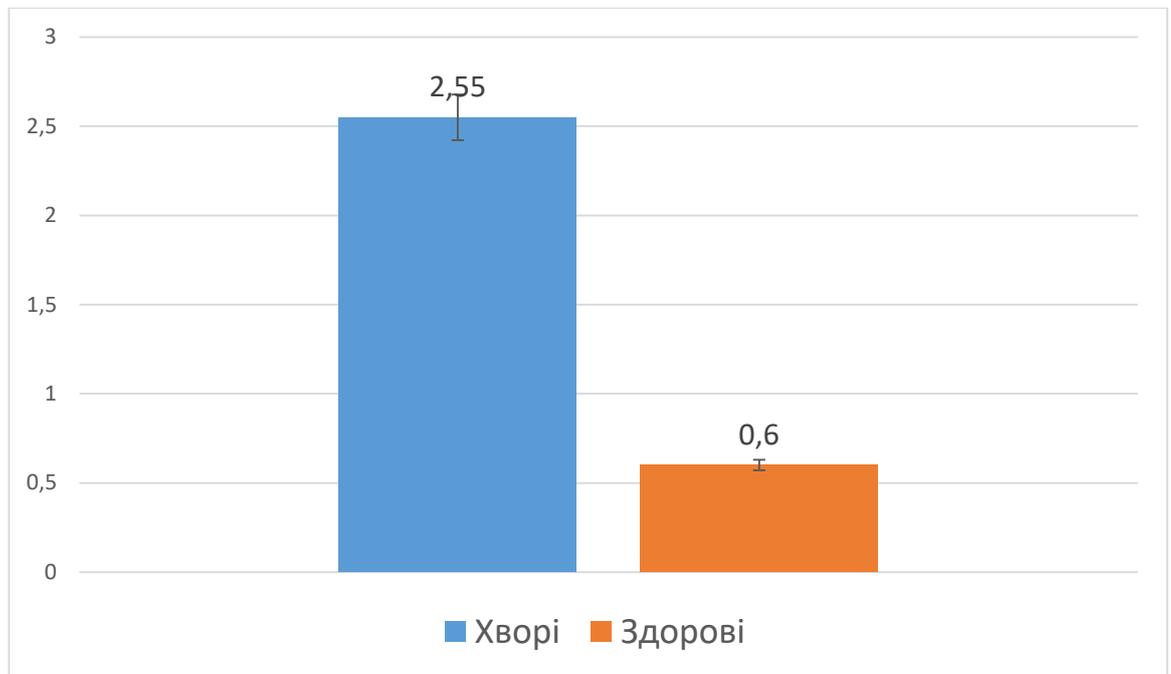


Рис. 3.5. Показники сироваткового IgM у досліджуваних з HSV-інфекцією та здорових новонароджених.

Потенційними причинами такого переважання значень показника в хворих дітей можуть бути більша тяжкість перебігу (церебральна або дисемінована форма, що посилює запальну відповідь), супутні інфекції з групи TORCH, відмінності у часі забору зразків (IgM у перші тижні життя природно зростає), а також методичні особливості платформ вимірювання; однак навіть з урахуванням цих чинників міжгрупова різниця залишається великою і статистично достовірною ($p < 0,05$).

Аналіз даних, отриманих за сироватковим IgG показав, що за цим показником групи практично не відрізняються: у хворих $8,88 \pm 0,89$ г/л, у здорових $8,97 \pm 0,30$ г/л ($p > 0,05$) (рис. 3.6).

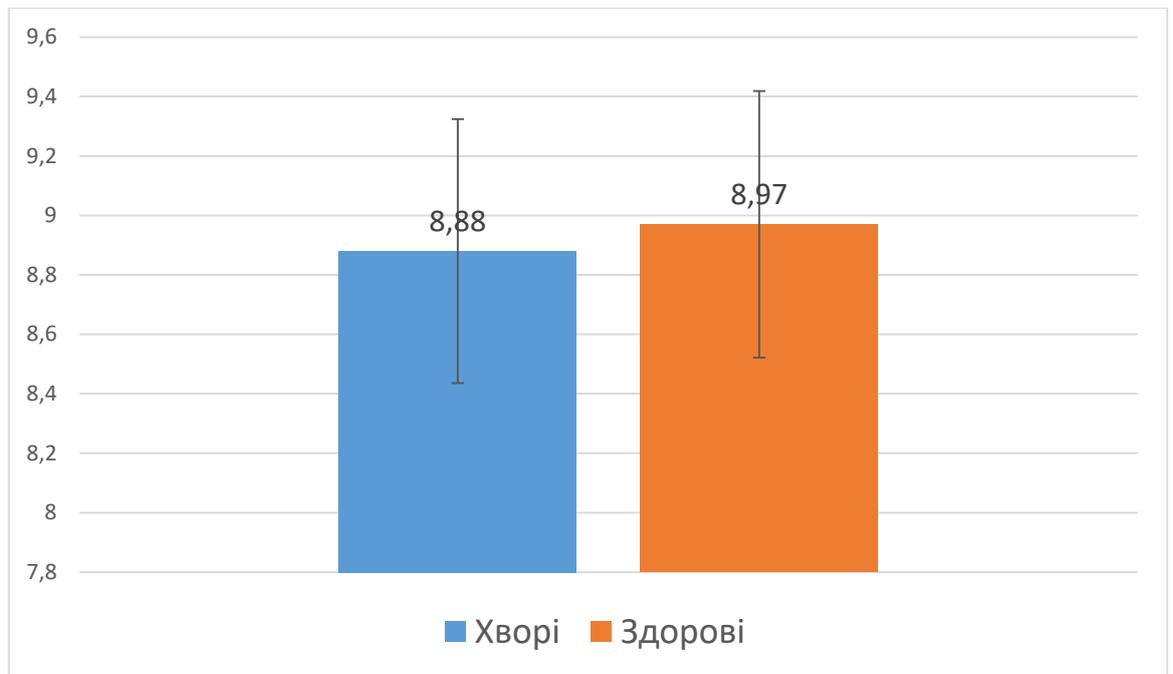


Рис. 3.6. Показники сироваткового IgG у досліджуваних з HSV-інфекцією та здорових новонароджених.

Даний ефект є очікуваним, адже загальний IgG у перинатальному періоді переважно материнського походження (завдяки активному трансплацентарному переносу) і тому не відображає специфічну гуморальну відповідь немовляти на HSV. На даному віковому відрізку на рівень IgG впливають швидше фактори, пов'язані з функціонуванням організму матері, ефективність плацентарного переносу, гестаційний вік та час забору, а не сам факт HSV-інфекції.

Продовжуючи імунологічний аналіз крові немовлят ми перейшли до аналізу цитокінів, зокрема IL-6. У новонароджених із вірусом HSV середній рівень IL-6 становив $58,77 \pm 5,27$ пг/мл, тоді як у здорових ровесників — $9,24 \pm 0,85$ пг/мл ($p < 0,001$) (рис. 3.7).

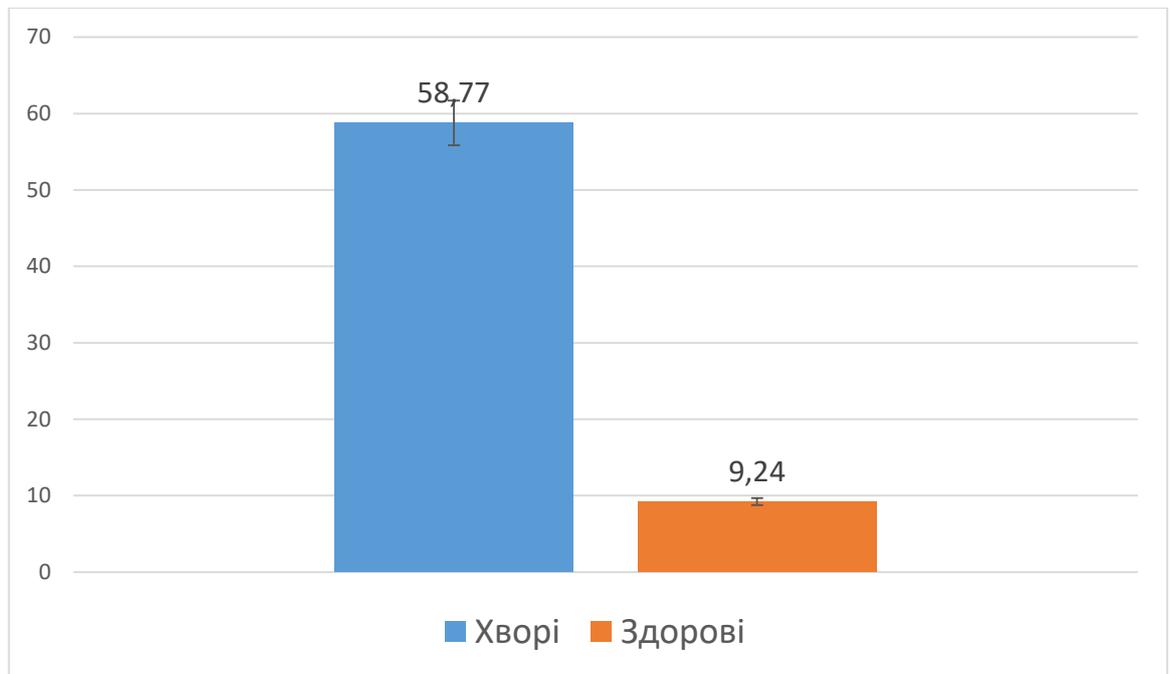


Рис. 3.7. Показники ІЛ-6 у досліджуваних з HSV-інфекцією та здорових новонароджених.

Аналіз даних показав, що в неінфікованих новонароджених ІЛ-6 зазвичай низький (часто $<10\text{--}20$ пг/мл), а при інфекції різко зростає й робить це раніше за класичні білки гострої фази [20, 48]. Для неонатального HSV підвищені прозапальні цитокіни, зокрема ІЛ-6, можуть бути пов'язані з тяжкими формами захворювання — дисемінованою та ЦНС-формою [13, 38, 54]. Фізіологічна роль ІЛ-6 відображає активацію вродженого імунітету (моноцитів/макрофагів) і корелює з тяжкістю системної запальної відповіді у немовлят [5].

Клінічно отримані дані означають, що ІЛ-6 має високу дискримінативну здатність між групами і може бути корисним раннім маркером системного ураження при підозрі на неонатальний HSV, але як неспецифічний цитокін він не визначає етіологію. Тому інтерпретацію слід обов'язково поєднувати з НААТ/ПІР із релевантних зразків та з клінічним фенотипом [38].

Аналіз рівня ІФН- α у новонароджених із HSV та здорових немовлят виявив виразне підвищення показника в групі хворих: $31,01 \pm 2,99$ пг/мл проти $6,67 \pm 0,57$ пг/мл у контролі (рис. 3.8).

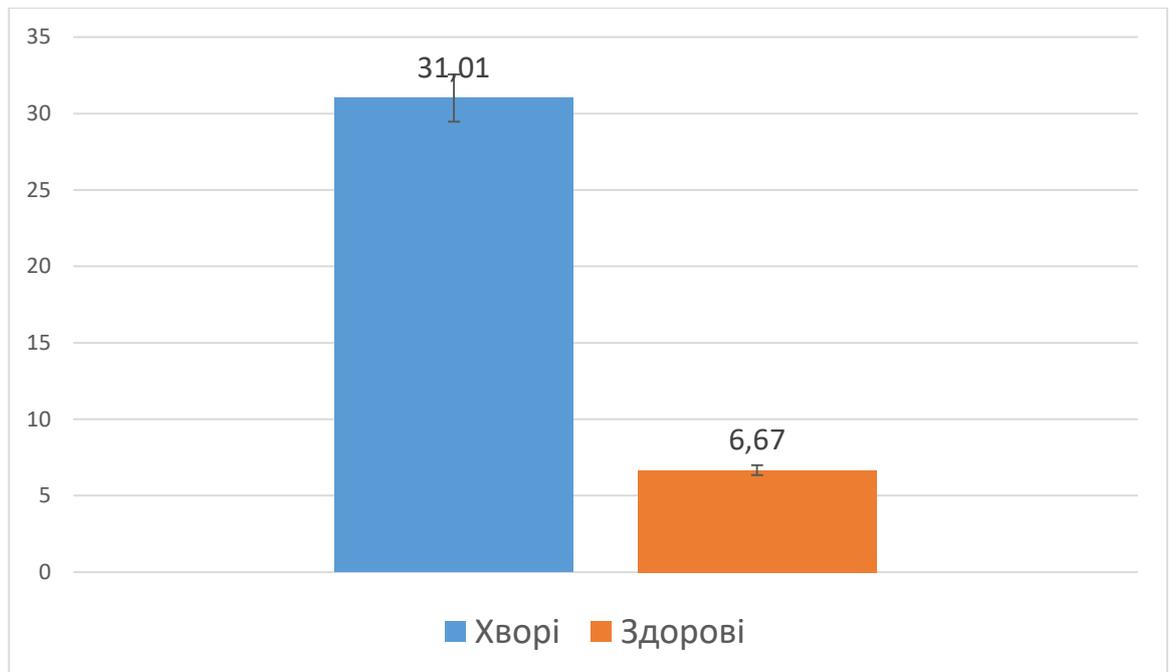


Рис. 3.8. Показники ІФН-α у досліджуваних з HSV-інфекцією та здорових новонароджених.

Значення ІФН-α підтверджують той факт, що у здорових новонароджених базальний рівень показника низький, а при вірусній інфекції спостерігається різке його підвищення за рахунок активації вродженого імунітету, передусім плазмоцитоїдних дендритних клітин [39, 41].

Для неонатального HSV роль інтерферонів є ключовою: вони обмежують реплікацію вірусу та поширення, а генетичні порушення сигнального шляху TLR3–IFN (TRIF/UNC93B1/TBK1/IRF3 тощо) асоційовані з тяжким герпетичним енцефалітом у дітей [64]. Тому спостережувана у нашому експерименті висока системна продукція ІФН-α у хворих новонароджених є біологічно очікуваною ознакою активної противірусної відповіді та корелює з тяжкістю запалення, як це описано для герпетичного ураження ЦНС і дисемінованих форм [38].

Водночас ІФН-α — неспецифічний маркер вірусного запалення: його підвищення не доводить етіологію HSV і має інтерпретуватися разом із НААТ/ПЛР із релевантних зразків, однак навіть з урахуванням цих чинників

міжгрупова різниця у нашій вибірці залишається статистично переконливою ($p < 0,05$) і достовірно значущою.

3.2. Функціональна оцінка стану здоров'я новонароджених з HSV

Нейровізуалізаційні результати у 20 новонароджених із HSV-інфекцією показали, що гіперехогенність паренхіми мозку відмічена у 50%, кальцифікати різної локалізації — у 45%, а норма — лише у 1 новонародженого (5%). Тобто у 95% дітей з HSV виявлено патологічні зміни на НСГ чи МРТ (рис. 3.9).

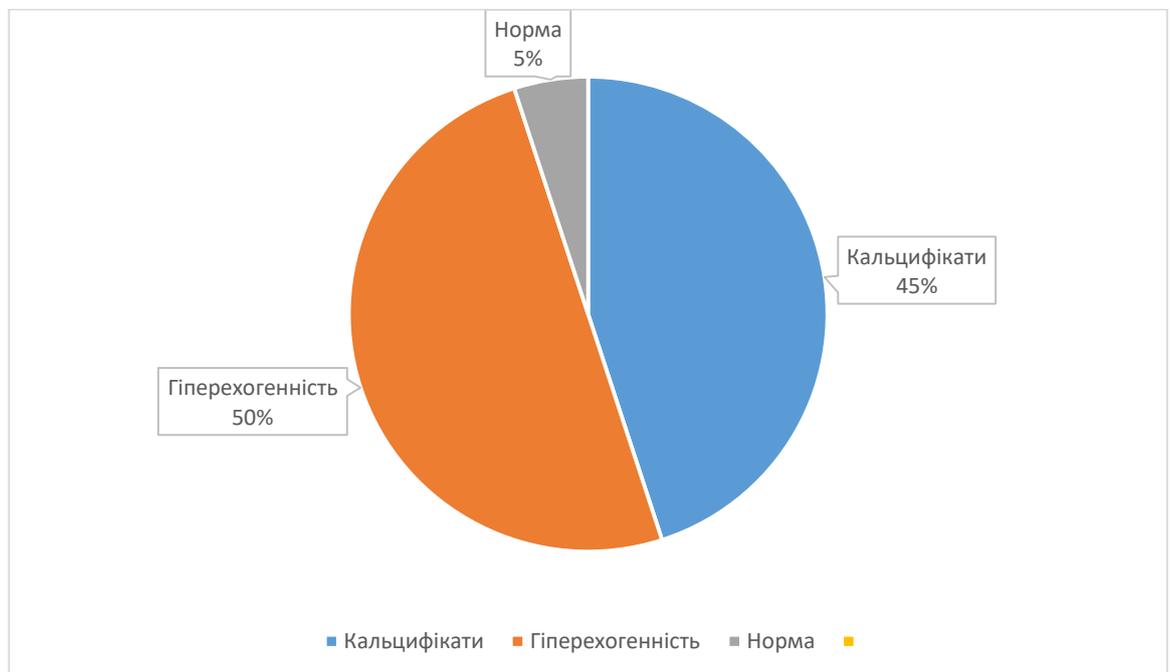


Рис. 3.9. Співвідношення результатів нейросонографічного обстеження серед хворих новонароджених.

Висока частка будь-яких патологічних змін (95%) узгоджується з даними, що у більшості немовлят з HSV-ураженням ЦНС виявляють відхилення на НСГ/МРТ [15, 30].

Найчастіше зустрічавана гіперехогенність за даними літератури відповідає набряку, геморагічному некрозу та гліозу при герпетичному енцефаліті й добре узгоджується з відомими паттернами HSV-ураження ЦНС

у неонатів [15, 38]. Переважання ехоструктурних змін (50%) відображає активну фазу запалення чи некрозу, що типово для перших тижнів життя немовлят з HSV [38].

Висока частка кальцифікатів (45%) для вибірки, де ПЛР виконувалась насамперед на HSV, підвищує ймовірність змішаного/перинатально поєднаного інфікування (наприклад, CMV+HSV) або наслідків інтраутробного ураження, що також описано як причина несприятливого нейророзвиткового прогнозу [38]. За даними літератури інтракраніальні кальцифікати у новонароджених більш типові для вродженого ЦМВ, токсоплазмозу та інших TORCH-інфекцій, але можуть формуватися і як наслідок перенесеного внутрішньоутробного або раннього некротизуючого менінгоенцефаліту HSV (пізні постнекротичні зміни). Їхня частка 45% у досліджуваних досить висока для «чистого» HSV і вимагає активного дообстеження на TORCH (насамперед CMV ПЛР у сечі/крові та серологія, токсоплазмоз) [49].

Нормальна нейросонограма у 1 дитини не виключає HSV на ранніх стадіях [38].

Аналіз даних УЗД показав, що із 20 протоколів УЗД, гепатоспленомегалія зафіксована у 55% новонароджених, відсутня — у 45%. Така частота відповідає дисемінованим формам неонатального HSV, для яких саме і описуються ураження печінки та/або селезінки, коагулопатія й підвищення трансаміназ як типові прояви [38].

Гепатоспленомегалія у немовляти з підозрою на HSV має розцінюватися як один класичних проявів дисемінації, особливо якщо супроводжується цитокінемією (підвищені ІЛ-6, TNF- α), тромбоцитопенією, гіперферментемією та ПЛР(+) у крові (рис. 3.10).

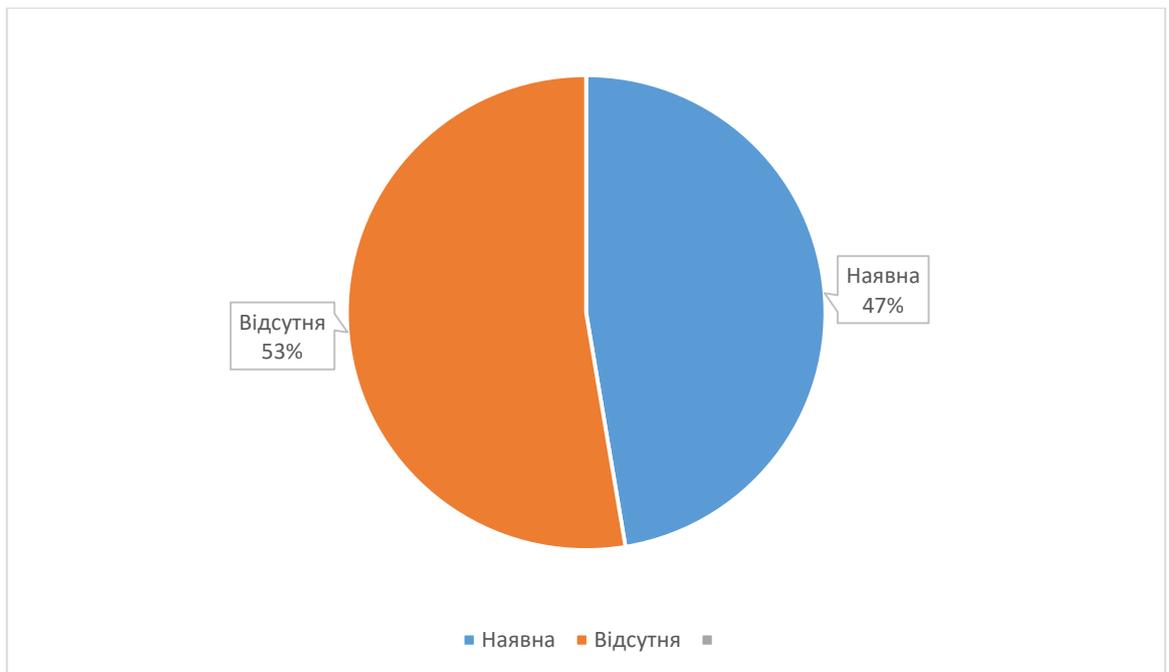


Рис. 3.10. Співвідношення результатів УЗД обстеження щодо наявності/відсутності гепатоспленомегалії серед хворих новонароджених.

Водночас цей ультразвуковий фенотип не є специфічним для HSV: його часто спостерігають і при вродженому CMV та інших TORCH-інфекціях. З огляду на високий відсоток «Так», доцільно паралельно перевірити CMV (ПЛР сечі/крові протягом перших 2–3 тижнів життя) і, за показами, токсоплазмоз.

Таким чином, в аналізованій нами вибірці новонароджених із високою клінічною підозрою на герпесвірусну інфекцію молекулярний скринінг засвідчив, що 70% мали ПЛР-підтвердження HSV, ще 10% — пограничні («сумнівні») результати і 20% — негативні. Такий розподіл характерний для цільових когорт із високою передтестовою імовірністю, коли зразки беруть із активних уражень у відповідні часові вікна; пограничні відповіді зазвичай відображають низьке вірусне навантаження, часткове лікування або преаналітичні похибки й потребують повторного забору іншого матеріалу. Негативна ПЛР на тлі переконливої клініки не знімає діагнозу і вимагає перетестування, зокрема з альтернативного локусу.

Гуморальний профіль демонструє послідовні зміни: у частині досліджень, де IgM подавався як клінічний показник груп, його середній

рівень у хворих суттєво перевищував контроль ($2,55 \pm 0,29$ проти $0,60 \pm 0,04$ г/л; $p < 0,05$), що відповідає активованій неонатальній відповіді, оскільки IgM не проходить через плаценту. Таке підвищення IgM у хворих немовлят у будь-якому разі слугує маркером інфекційно-запального процесу, але не є специфічним для HSV і не може використовуватися як етіологічне підтвердження. Для IgG спостерігалися два сценарії: у «клінічній» парі показників групові середні майже не відрізнялися (приблизно 8,9 г/л у обох групах; $p > 0,05$), що логічно з огляду на переважно материнське походження неонатального IgG. Сироватковий IgA був помірно, але достовірно вищим у когорти HSV ($0,35 \pm 0,03$ проти $0,25 \pm 0,02$ г/л; $p < 0,05$) і залишався в межах неонатальних референтів. Зважаючи на те, що IgA не транспортується плацентарно, це свідчить про власну продукцію у відповідь на мукозний антигенний стимул, однак також не є специфічною ознакою HSV.

Клітинна ланка імунітету показала більш однозначні відмінності. Абсолютні CD4 у хворих були значуще нижчими за контроль ($1465,95 \pm 85,68$ проти $2142,60 \pm 98,12$ кл/мкл; $p < 0,05$) і для багатьох дітей опускалися нижче очікуваного «дитячого» плато перших тижнів життя (де CD4 зазвичай $2,0\text{--}3,5 \times 10^3$ /мкл). Такий профіль відповідає транзиторній Т-лімфопенії на тлі системної вірусної інфекції і пояснюється міграцією Т-клітин у тканини ураження, індукцією апоптозу прозапальними цитокінами та стресовою нейроендокринною відповіддю. Абсолютні CD8 у хворих теж були нижчими ($674,05 \pm 43,51$ проти $852,65 \pm 35,22$ кл/мкл; $p < 0,05$), хоча обидва середні залишалися у межах вікових інтервалів; імовірніше, що вирішальним є не стільки кількість, скільки функціональна незрілість неонатальних CD8 (повільніше праймування і менша цитотоксична активність), що обмежує контроль реплікації HSV.

Цитокінетичний профіль підтверджує системність процесу. IL-6 у хворих становив $58,77 \pm 5,27$ проти $9,24 \pm 0,85$ пг/мл у контролі ($p < 0,001$), а IFN- α — $31,01 \pm 2,99$ проти $6,67 \pm 0,57$ пг/мл ($p < 0,001$). Таке підвищення добре відображає ранню активацію вродженого імунітету, високу інтенсивність

запалення і корелює з ризиком дисемінації та ЦНС-ураження. Водночас обидва маркери лишаються етіологічно неспецифічними і можуть інтерпретуватися разом із NAAT/ПЛР та клінікою.

Інструментальні методи дослідження як правило доповнюють біомаркери. Нейросонографія/МРТ виявила патологію у 95% дітей: гіперехогенність паренхіми мозку у 50%, кальцифікати в різних ділянках у 45%, нормальна картина лише в 5%. Гіперехогенність відповідає гострому набряку/некрозу при герпетичному енцефаліті, тоді як висока частка кальцифікатів для «чистого» HSV нетипова і зумовлює необхідність активного TORCH-скринінгу, насамперед на CMV, з огляду на можливі ко-інфекції або наслідки внутрішньоутробного ураження. Абдомінальне УЗД засвідчило гепатоспленомегалію у 55% немовлят, що характерно для дисемінованих форм неонатального HSV і узгоджується з підвищенням прозапальних цитокінів, потенційними коагулопатіями й гіперферментемією.

Вцілому отримані нами дані формують узгоджений патофізіологічний портрет активної системної вірусної інфекції з високою частотою нейро- та вісцеральних уражень: у більшості дітей етіологія підтверджується ПЛР, гуморальні маркери вказують на інфекційно-запальну активацію без специфічної діагностичної цінності, клітинна ланка демонструє транзиторну Т-лімпопенію, а цитокіновий каскад (IL-6, IFN- α) — інтенсивність системної відповіді. Візуалізаційні методики підсилюють підозру на ЦНС-форму та дисемінацію і одночасно підказують потребу в TORCH-дообстеженні. З практичної точки зору оптимально поєднувати NAAT/ПЛР із релевантних матриць (ураження шкіри/слизових, кров; СМР при підозрі на ЦНС-залучення) з раннім цитокіновим профілюванням, стандартизованою імунограмою (CD4/CD8) і нейровізуалізацією, оцінюючи все в динаміці та в межах неонатальних референтів. Такий комплекс дозволяє своєчасно стратифікувати ризик, виявити ймовірні ко-інфекції, оптимізувати інтенсивність терапії та моніторинг.

ВИСНОВКИ

1. Етіологічне підтвердження HSV забезпечує ПЛР: у цільовій вибірці 70% позитивів і 10% «сумнівних» виявлень підкреслюють необхідність повторного забору/альтернативних матриць при пограничних або негативних результатах за наявності клінічної підозри.

2. Запальна відповідь у хворих новонароджених виражена підвищеними IgM/IgA (неспецифічні маркери), дуже високими IL-6 та IFN- α ($p < 0,001$), що свідчить про системну активацію вродженого імунітету й є корисними для стратифікації тяжкості, але не замінюють етіологічної діагностики.

3. Зниження CD4 і, меншою мірою, CD8 у групі HSV відображає транзиторну Т-лімфопенію та/або міграцію ефекторних клітин у тканини ураження, що патогенетично узгоджується з тяжчим перебігом.

4. IgG у перинатальний період переважно материнського походження і його подібні або нижчі рівні у хворих радше відображають коливання трансплацентарного переносу та вплив тяжкого стану, ніж специфічну відповідь немовляти; тому IgG не придатний для підтвердження HSV.

5. Візуалізація виявляє ураження ЦНС і печінки/селезінки у більшості випадків: 95% патології на НСГ/МРТ та 55% гепатоспленомегалії узгоджуються з дисемінованими/ЦНС-формами неонатального HSV і мають бути підставою для інтенсивної тактики та розширеного лабораторного моніторингу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Овсяннікова Д.Ю., Борис Л.В., Качула О.В., Ануфрієва С.В. Етіологічні та клінічні особливості генітального герпесу у вагітних і жінок репродуктивного віку. *Український журнал здоров'я жінки*. 2024. №4 (182). С. 84–88. DOI: 10.15574/HW.2024.182.84.
2. Незгода І.І. Клініко-морфологічні особливості вродженої ЦМВ-інфекції. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2012.
3. Нічихова О.О., Приймак Н.В., Пилипчук В.І., Радченко Т.О. Генералізована вроджена герпесвірусна інфекція у новонародженого: клінічний випадок. *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*. 2022. Т. 12, №3. С. 34–41.
4. Тригуб А.А., Лантух І.В., Савчук Г.М., Копильчук Г.І., Болтівець А.Л., Сердюк В.П. Особливості ураження центральної нервової системи у новонароджених з внутрішньоутробними інфекціями (TORCH). *Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина*. 2019. Т. 9, №2. С. 46–49.
5. Adkins, B.; Leclerc, C.; Marshall-Clarke, S. Neonatal adaptive immunity comes of age. *Nature Reviews Immunology*. 2004. Vol. 4, No. 7. P. 553–564. DOI: 10.1038/nri1394.
6. Aebi-Popp, K.; Mulcahy, F.; Glass, T.R.; et al. High prevalence of HSV-2 co-infection among HIV-positive women in Ukraine, but no increased HIV mother-to-child transmission risk. *BMC Pregnancy and Childbirth*. 2016. 16:94. DOI: 10.1186/s12884-016-0887-y.
7. Ahmad, B.; Van Gelder, R.N. Herpes simplex keratitis. *StatPearls*. 2024. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545278/> (дата звернення: 19.10.2025).
8. Alt M., Wolf S., van de Sand L., Dittrich R., Tertel T., Brochhagen L., Dirks M., Aufderhorst U.W., Thümmeler L., Otte M., Rainer K., Dittmer U., Giebel B., Trilling M., Silke Heilingloh C., Lotfi R., Roggendorf M., Witzke O.

- Krawczyk A. () Cell-to-cell spread inhibiting antibodies constitute a correlate of protection against herpes simplex virus type 1 reactivations: A retrospective study. *Front. Immunol.* 2023. 14:1143870. doi: 10.3389/fimmu.2023.1143870
9. Alareeki A, Osman AMM, Khandakji MN, Looker KJ, Harfouche M, Abu-Raddad LJ. Epidemiology of herpes simplex virus type 2 in Europe: systematic review, meta-analyses, and meta-regressions. *Lancet Reg Health Eur.* 2022 Dec 12;25:100558. doi: 10.1016/j.lanepe.2022.100558.
 10. Amatuni, G.S.; Sciortino, S.; Currier, R.J.; et al. Reference intervals for lymphocyte subsets in preterm and term neonates without immune defects. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2019. 144(6):1674–1683. DOI: 10.1016/j.jaci.2019.08.031.
 11. Anzivino, E.; Fioriti, D.; Mischitelli, M.; et al. Herpes simplex virus infection in pregnancy and in neonate. *Virology Journal.* 2009. 6:40. DOI: 10.1186/1743-422X-6-40.
 12. Arvin, A.; Campadelli-Fiume, G.; Mocarski, E.; et al. (Eds.). *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis.* Cambridge: Cambridge University Press, 2007. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK47376/> (дата звернення: 19.10.2025).
 13. Aurelius, E.; Johansson, B.; Sköldenberg, B.; et al. Cytokines in CSF in herpes simplex encephalitis: Interleukin-6 is elevated. *Journal of Infectious Diseases.* 1993. 167(6):1427–1430. DOI: 10.1093/infdis/167.6.1427.
 14. Bai, L.; Zhang, X.; Li, Y.; Zhou, J. A review of HSV pathogenesis, vaccine development, and advanced applications. *Molecular Biomedicine.* 2024. 5(1):27. DOI: 10.1186/s43556-024-00147-9.
 15. Barkovich, A.J. Lindan, C.E. MR of neonatal herpes simplex virus encephalitis. *American Journal of Neuroradiology.* 1994. 15(6):1247–1256.

- 16.Brandtzaeg, P. Secretory IgA: Designed for mucosal homeostasis and immune exclusion. *Mucosal Immunology*. 2013. 6(1):3–11. DOI: 10.1038/mi.2012.64.
- 17.Bradshaw, M.J.; Venkatesan, A. Herpes simplex virus-1 encephalitis in adults. *Neurotherapeutics*. 2016. 13(3):493–508. DOI: 10.1007/s13311-016-0433-7.
- 18.Canova P.N., Charron A.J., Leib D.A. Models of Herpes Simplex Virus Latency. *Viruses*. 2024 May 8;16(5):747. doi: 10.3390/v16050747
- 19.Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines: Genital Herpes. 2021. URL: <https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/herpes.htm> (дата звернення: 19.10.2025).
- 20.Chiesa, C.; Pacifico, L.; Osborn, J.F.; et al. Early-onset neonatal sepsis: IL-6 vs CRP. *Clinical Chemistry*. 2001. 47(6):1016–1022.
- 21.Corey L., Wald A. Maternal and neonatal herpes simplex virus infections. *N Engl J Med*. 2009 Oct 1;361(14):1376-85. doi: 10.1056/NEJMra0807633.
- 22.Danastas K., Guo G., Merjane J., Hong N., Larsen A., Miranda-Saksena M., Cunningham A.L. Interferon inhibits the release of herpes simplex virus-1 from the axons of sensory neurons. *mBio*. 2023 Oct 31;14(5):e0181823. doi: 10.1128/mbio.01818-23.
- 23.De Rose, D.U.; Bompard, S.; Maddaloni, C.; et al. Neonatal HSV infection: From maternal infection to child outcome. *Journal of Medical Virology*. 2023. 95(8):e29024.
- 24.Della Chiesa, M.; Falco, M.; Podestà, M.; et al. Human NK cells and herpesviruses. *Frontiers in Microbiology*. 2019. 10:2297.
- 25.Deng, Y., Lin, Y., Chen, S. et al. Neuronal miR-9 promotes HSV-1 epigenetic silencing and latency by repressing Oct-1 and Onecut family genes. *Nat Commun* 15, 2024. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-46057-6>
- 26.Duarte, L.F.; Farías, M.A.; Álvarez, D.M.; et al. HSV-1 infection of the CNS. *Frontiers in Immunology*. 2019. 10:2401.

27. ECDC. Developing a national STI strategy. 2023. URL: <https://www.ecdc.europa.eu/> (дата звернення: 19.10.2025).
28. Ellermann-Eriksen, S. Macrophages and cytokines in early defence against HSV. *Virology Journal*. 2005. 2:59.
29. Fernández, M.A.; et al. Neonatal CD8⁺ T cells after HSV infection. *Journal of Immunology*. 2008. 181(5):3468–3475.
30. Fink, K.R.; Thapa, M.M. Imaging of pediatric CNS infection. *Radiographics*. 2013. 33(3):753–776.
31. Gibbert K., Schlaak J.F., Yang D., Dittmer U. IFN- α subtypes: distinct biological activities in anti-viral therapy. *Br J Pharmacol*. 2013 Mar;168(5):1048-58. doi: 10.1111/bph.12010.
32. Goldstein, M.F.; Reiser, K. Pediatric selective IgM immunodeficiency. *Allergy and Asthma Proceedings*. 2008. 29(4):373–379.
33. Harandi Ali M., Svennerholm B.O., Holmgren J.A.N., Eriksson K. Interleukin-12 (IL-12) and IL-18 Are Important in Innate Defense against Genital Herpes Simplex Virus Type 2 Infection in Mice but Are Not Required for the Development of Acquired Gamma Interferon-Mediated Protective Immunity. *JOURNAL OF VIROLOGY*. 2001 July 2001. 75(14). 6705–6709 DOI: 10.1128/JVI.75.14.6705–6709.
34. Hull M.A., Pritchard S.M., Nicola A.V. Herpes simplex virus 1 envelope glycoprotein C shields glycoprotein D to protect virions from entry-blocking antibodies. *J Virol*. 2025 Apr 15;99(4):e0009025. doi: 10.1128/jvi.00090-25.
35. ICTV. Family Orthoherpesviridae: morphology and structure. 2023. URL: <https://ictv.global/report/chapter/orthoherpesviridae/> (дата звернення: 19.10.2025).
36. James, C.; Harfouche, M.; Welton, N.J.; et al. HSV prevalence and incidence, 2016. *Bulletin of the WHO*. 2020. 98(5):315–329.
37. Jaggi U., Wang S., Mott K.R., Ghiasi H. Binding of herpesvirus entry mediator (HVEM) and HSV-1 gD affect reactivation but not latency levels.

- PLoS Pathog. 2023 Sep 22;19(9):e1011693. doi: 10.1371/journal.ppat.1011693.
38. Kimberlin, D.W. Neonatal herpes simplex infection. *Clinical Microbiology Reviews*. 2004. 17(1):1–13.
 39. Kollmann, T.R.; Levy, O.; Montgomery, R.R.; Goriely, S. Innate immune function by TLRs. *Immunity*. 2012. 37(5):771–783.
 40. Leber, A.L.; et al. Multicenter evaluation of FilmArray ME panel. *Journal of Clinical Microbiology*. 2016. 54(9):2251–2261.
 41. Levy, O. Innate immunity of the newborn. *Nature Reviews Immunology*. 2007. 7(5):379–390.
 42. Leruez-Ville M., Abdallah N., Cuadrado V., et al. Consensus recommendations for prenatal, neonatal and postnatal management of congenital cytomegalovirus. *The Lancet Regional Health – Europe*. 2024. Vol. 40. Article 100892. DOI: 10.1016/j.lanepe.2023.100892.
 43. Liberati C., Andreoni M., Lanzone A., et al. The burden of congenital cytomegalovirus infection: a narrative review. *Pathogens*. 2024. Vol. 13, No. 1. Article 45. DOI: 10.3390/pathogens13010045.
 44. Lindström, J.; et al. Assessment of FilmArray ME panel in 4,199 CSF samples. *International Journal of Infectious Diseases*. 2022. 116:155–162.
 45. Looker, K.J.; Magaret, A.S.; May, M.T.; et al. Global and regional incidence of neonatal herpes. *The Lancet Global Health*. 2017. 5(3):e300–e309.
 46. Mettenleiter T.C. Herpesvirus Assembly and Egress. *J Virol*. 2002. 76. <https://doi.org/10.1128/jvi.76.4.1537-1547.2002>
 47. Muller, W.J.; Zheng, X. Laboratory diagnosis of neonatal HSV infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019. 57(5):e01131-18.
 48. Ng, P.C. Diagnostic markers of infection in neonates. *Archives of Disease in Childhood Fetal & Neonatal*. 2003. 88(3):F182–F188.
 49. Noyola, D.E.; Demmler, G.J. Congenital cytomegalovirus infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2000. 31(5):1465–1470.

50. Palmeira, P.; Quinello, C.; Silveira-Lessa, A.L.; Zago, C.A.; Carneiro-Sampaio, M. IgG placental transfer. *Clinical and Developmental Immunology*. 2012. 985646.
51. Piret, J.; Boivin, G. Immunomodulatory strategies in HSE. *Clinical Microbiology Reviews*. 2020. 33(2):e00105-19.
52. Rajasagi M., Shukla S.A., Fritsch E.F., Keskin D.B., DeLuca D., Carmona E., Zhang W., Sougnez C., Cibulskis K., Sidney J., Stevenson K., Ritz J., Neuberg D., Brusic V., Gabriel S., Lander E.S., Getz G., Hacohen N., Wu C.J. Systematic identification of personal tumor-specific neoantigens in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2014 Jul 17;124(3):453-62. doi: 10.1182/blood-2014-04-567933.
53. Rouse B.T., Sehrawat S. Immunity and immunopathology to viruses: what decides the outcome? *Nat Rev Immunol*. 2010 Jul;10(7):514-26. doi: 10.1038/nri2802.
54. Samies, N.L.; James, S.H.; Kimberlin, D.W. Neonatal HSV: Updates and challenges. *Clinics in Perinatology*. 2021. 48(1):65–85.
55. Sausen D.G., Shechter O., Gallo E.S., Dahari H, Borenstein R. Herpes Simplex Virus, Human Papillomavirus, and Cervical Cancer: Overview, Relationship, and Treatment Implications. *Cancers (Basel)*. 2023 Jul 20;15(14):3692. doi: 10.3390/cancers15143692.
56. Schleiss M.R., Diener M.L. Universal newborn screening for congenital CMV: current evidence // *The Lancet Child & Adolescent Health*. 2025. DOI: 10.1016/S2352-4642(25)XXXXXX.
57. Shearer, W.T.; Rosenblatt, H.M.; Gelman, R.S.; et al. Lymphocyte subsets in healthy children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2003. 112(5):973–980.
58. Slomka, M.J.; Emery, V.C.; Munday, P.E.; Gray, J.J. PCR vs culture for HSV in genital lesions. *Journal of Medical Virology*. 1998. 55(2):177–183.
59. St Leger A.J., Jeon S., Hendricks R.L. Broadening the repertoire of functional herpes simplex virus type 1-specific CD8+ T cells reduces viral reactivation

- from latency in sensory ganglia. *J Immunol*. 2013 Sep 1;191(5):2258-65. doi: 10.4049/jimmunol.1300585.
60. STIEF – New Zealand Sexual Health Society. Neonatal HSV infection — clinical guideline. 2024–2025. URL: <https://guidelines.stief.org.nz/herpes-neonatal-hsv-infection> (дата звернення: 19.10.2025).
61. Yousuf W, Ibrahim H, Harfouche M, Abu Hijleh F, Abu-Raddad L. Herpes simplex virus type 1 in Europe: systematic review, meta-analyses and meta-regressions. *BMJ Glob Health*. 2020 Jul;5(7):e002388. doi: 10.1136/bmjgh-2020-002388. PMID: 32675066; PMCID: PMC7369148.
62. World Health Organization (WHO). Herpes simplex virus – Fact sheet. 2025-05-30. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus> (дата звернення: 19.10.2025).
63. World Health Organization (WHO). Over 1 in 5 adults worldwide has a genital herpes infection. News Release. 2024-12-11. URL: <https://www.who.int/news/> (дата звернення: 19.10.2025).
64. Zhang et al. *The Journal of Infectious Diseases*, Volume 197, Issue 9, 1 May 2008, Page 1354, <https://doi.org/10.1086/587876>
65. Zhou M, Shen Z. Advanced progress in the genetic modification of the oncolytic HSV-1 virus. *Front Oncol*. 2025 Jan 21;14:1525940. doi: 10.3389/fonc.2024.1525940
66. Zhu S, Viejo-Borbolla A. Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. *Virulence*. 2021 Dec;12(1):2670-2702. doi: 10.1080/21505594.2021.1982373.