

Намазова И.К., Меджидова С.Р., Шамилова Ф.Г., Заргарли И.А.

## КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕАКТИВАЦИИ ГЕРПЕТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИИ ПОСЛЕ ТРАВМЫ ГЛАЗА.

*Национальный Центр Офтальмологии имени академика Зарифы Алиевой, г.Баку*

**Ключевые слова:** ранние антигены, вирусы герпеса, реактивация, травматический кератит.

Герпес-вирусы широко распространены среди населения всего мира, ими инфицировано, в основном бессимптомно, 80-98% взрослого населения. Заражение происходит преимущественно в раннем детском возрасте, после чего вирусы сохраняются в организме человека на протяжении всей жизни, чаще всего в латентной форме. Герпес-вирусы относятся к возбудителям оппортунистических инфекций, отличительная черта которых - склонность к реактивированию под влиянием разнообразных экзо- и эндогенных факторов [1]. В отличие от возбудителей других оппортунистических инфекций, герпес-вирусы реактивируются не только в условиях выраженного иммунодефицита, но и у иммунокомпетентных людей.

Вирусы группы герпеса могут выступать в роли как этиологического фактора поражения глаз (офтальмогерпес), так и играть триггерную роль в рецидивировании воспалительного процесса в глазу (герпесассоциированная офтальмопатология). Длительная репликативная активность герпес-вирусов в тканях пораженных органов является одним из факторов риска рецидивирования герпетической болезни [2,3]. Но в отличие от офтальмогерпеса, при герпесассоциированной патологии глаза прогностически неблагоприятным является сам факт реактивации вируса независимо от локализации очага активности.

Травма глаза является одним из пусковых факторов, способствующих реактивации герпетической инфекции. При этом хронизации процесса способствуют повторные рецидивы, ещё более усугубляя воспаление, существенно влияя на визуальные показатели и снижая работоспособность пациентов.

Наряду со стандартным определением в сыворотке крови IgG к структурным антигенам вируса простого герпеса 1 и 2 типа (образующихся не раньше месяца после реактивации инфекции), более информативным методом оценки активизации хронической инфекции в начале заболевания является выявление сывороточных антител класса IgG к ранним регуляторным неструктурным антигенам этих вирусов [4]. Применение данного метода позволяет не только диагностировать, но и прогнозировать риск рецидивирования герпесассоциированных заболеваний глаз [5]. Однако в доступной нам литературе мы не нашли сведений о результатах применения данного метода у больных с травмой глаза.

В связи с вышеизложенным, целью данного исследования являлась оценка результатов диагностического применения метода выявления сывороточных антител класса IgG к регуляторным неструктурным антигенам вируса простого герпеса (ВПГ) 1 и 2 типа при патологии роговицы травматического генеза.

### **Материал и методы.**

Клинико – иммунологическое исследование проводилось на базе клинического материала отдела травмы, пластической и реконструктивной хирургии глаза Национального Центра Офтальмологии имени академика Зарифы Алиевой. Было обследовано 37 пациентов, поступивших в клинику с различными осложнениями травмы роговицы, объединённых при лечении диагнозом «травматический кератит». Возраст обследуемых пациентов был в пределах от 25 до 60 лет. Преобладали больные мужского пола (81,1%) и молодого возраста (67,6%). Бытовая травма - 14 человек (37,8%), производственная – 23 (62,2%). В качестве ведущего фактора повреждения прослеживалась травма инородным телом и микротравмы роговицы. Основным травмирующим фактором было металлическое инородное тело (29 пациентов, 78,4%). У остальных пациентов кератит возник после непроникающего ранения роговицы веткой дерева (5 больных) и стеклянным осколком (3 пациента). Преобладающая часть обследуемых пациентов (24 пациента, 64,9 %) поступила из районных поликлиник. 19 больных (51,4%) не сразу обратились за медицинской помощью (через 2-5 дней после получения травмы). Сроки возникновения кератита после получения травмы были от 3 дней до 2 месяцев, в среднем  $14,3 \pm 1,2$  дня. Офтальмологическое исследование включало комплекс стандартного обследования. Для оценки степени выраженности воспалительного процесса учитывали состояние роговицы (глубина и площадь отёка, размер и локализация инфильтрата), реакцию радужки, цилиарного тела, прозрачность влаги передней камеры и стекловидного тела. Лечение обследуемых больных состояло из антибактериальных, противовирусных, десенсибилизирующих, противовоспалительных препаратов. Длительность пребывания на стационарном лечении: 7 – 16 дней.

В качестве маркера реактивации вирусов герпеса были выбраны антитела класса IgG к неструктурным «ранним» регуляторным вирусным антигенам, т.к. опубликованные в литературе результаты предварительных исследований свидетельствуют, что при рецидивах инфекции данные антитела выявляются достоверно чаще, чем IgM-противовирусные антитела ( $p < 0,05$ ) (5).

Обследование проводилось при поступлении больного в стационар. Анализ проводился следующим образом: у пациента из локтевой вены в сухую пробирку брали 2 мл крови, центрифугировали (2000 оборотов – 10 минут) и отсасывали сыворотку без эритроцитов. Образцы хранили при ( $- 15^{\circ}\text{C}$ ). Размораживали сыворотки однократно в день постановки анализа. Следуя инструкции производителя, сыворотки исследовали в твердофазном иммуноферментном анализе с наборами ЗАО «Биосервис» (РФ) (рис.1,2)

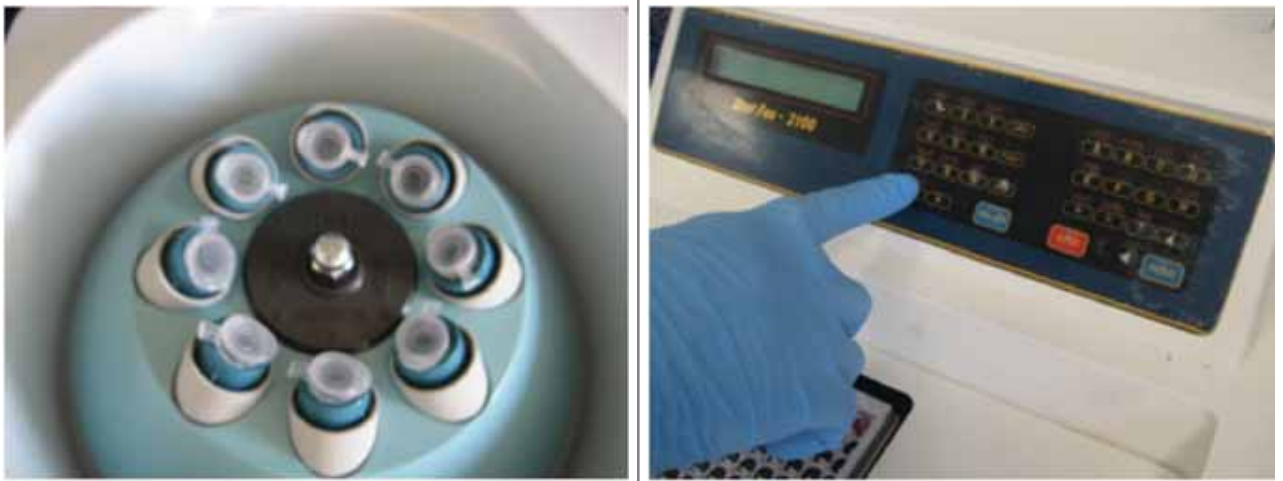


Рис.1,2. Поэтапное определение антител IgG к «ранним» антигенам вируса простого герпеса 1 и 2 типа.

На дне лунок 96-луночных планшетов адсорбированы очищенные рекомбинантные полипептиды - аналоги неструктурных вирусных белков: основного раннего ДНК-связывающего белка ВПГ1 и ВПГ2, а также контрольный антиген сравнения - синтезированный в клетках E.coli полипептид, не содержащий антигенные детерминанты вирусов герпеса.

Исследуемые сыворотки разводили (1:10) и добавляли в лунки планшета (по одной на каждый антиген). Далее инкубация в течение 60 минут при температуре  $37^{\circ}\text{C}$ . При этом имеющиеся в крови вирусспецифические антитела образуют с антигенами, сорбированными на дне лунки, прочные иммунные комплексы. После отсасывания жидкости и трехкратного отмывания от несвязавшихся антител в лунки вносили конъюгат антивидовых антител с пероксидазой хрена, детектирующий образование специфических иммунных комплексов на твердой фазе. Опять оставляли на 60 минут при температуре  $37^{\circ}\text{C}$ . Далее планшет отмывали от несвязавшейся части конъюгата, в лунки добавляли раствор хромогена, окрашивающий образовавшийся комплекс, выдерживали планшет 15 минут в темном месте при комнатной температуре и добавляли stop-reagent. Интенсивность окрашивания раствора в лунках измеряли спектрофотометрическим методом как величину оптического поглощения (ОП) при 492 нм. Величина ОП в каждой лунке пропорциональна исследуемой концентрации антител к неструктурным вирусным антигенам в образце сыворотки.

Количественный показатель для каждой сыворотки оценивался как разница между величиной ОП исследуемой сыворотки с антигенами вирусов герпеса и контрольным антигеном ( $\text{ОП} = \text{ОП с вирусным антигеном} - \text{ОП с контрольным антигеном}$ ). Значения ОП исследуемых сывороток выше 0,350 принимаются за положительные (т.е в крови присутствуют серологические маркеры активности вирусов герпеса). При значении ОП исследуемой сыворотки в 2 и более раз превышающей 0,350 ( $>0,7$ ) можно судить о риске рецидивирования герпесвирусной инфекции.

#### Результаты и обсуждение.

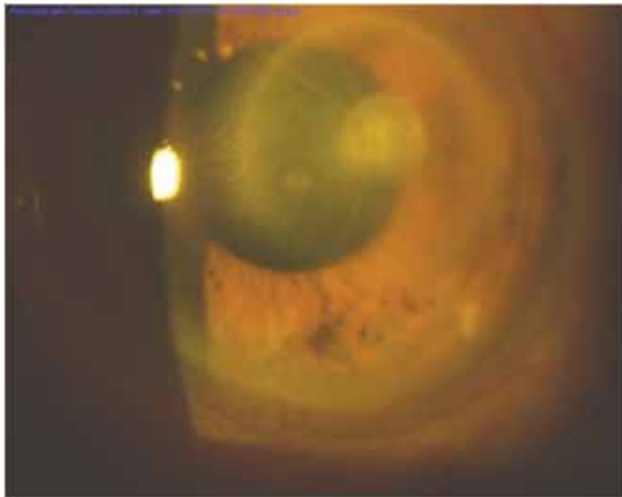
В нижеследующей таблице представлены результаты исследования уровня антител класса IgG к неструктурным «ранним» антигенам ВПГ1 и ВПГ2 в обследуемой группе пациентов с травматическим кератитом.

Таблица 1.

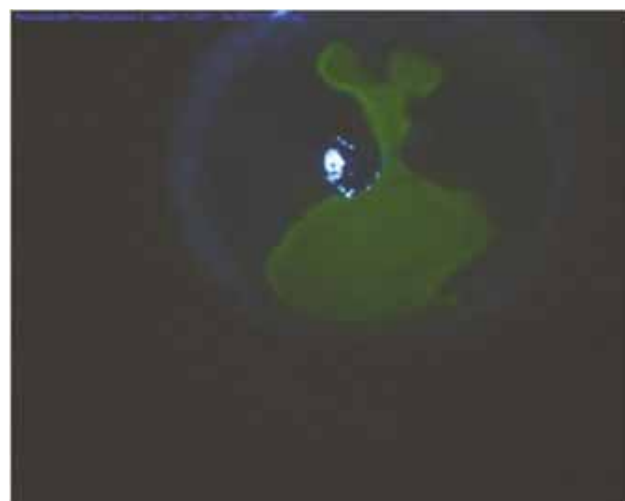
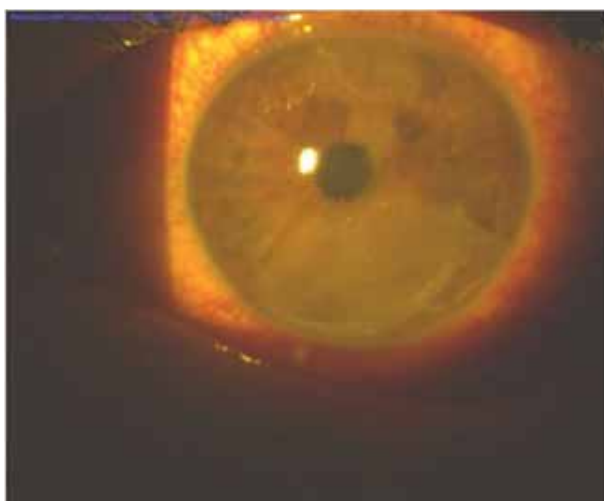
**Частота выявления антител IgG к «ранним» антигенам ВПГ1 и ВПГ2 при травматическом кератите.**

Уровень IgG-НС-антител к ВПГ1 или ВПГ2	Частота выявления антител к ВПГ1, n, (%)	Частота выявления антител к ВПГ2, n, %
$\Delta ОП < 0,350$	24 (64,9)	29 (78,4)
$0,350 < \Delta ОП < 0,70$	9 (24,3)	4 (10,8)
$\Delta ОП > 0,70$	4 (10,8)	2 (5,4)

Согласно анализу результатов, несмотря на то, что в большей части случаев не было обнаружено реактивации герпетической инфекции в обследуемой группе пациентов, необходимо отметить, что повышенный уровень антител класса IgG к неструктурным антигенам ВПГ1 был зарегистрирован в 35,1%, к антигенам ВПГ2 – в 16,2% случаев. Одновременно у 5-ых больных были обнаружены исследуемые антитела к антигенам как ВПГ1, так и ВПГ2. Уровень антител класса IgG к неструктурным антигенам ВПГ1 и ВПГ2 оставался повышенным у рассматриваемой категории больных с травматическим кератитом около месяца, даже в случаях затихания патологического процесса. Вероятно, повышение титра этих антител далее в динамике, как указывают результаты исследований, проведённые по изучению данного диагностического метода [5], может прогнозировать риск рецидивирования вируса герпеса.

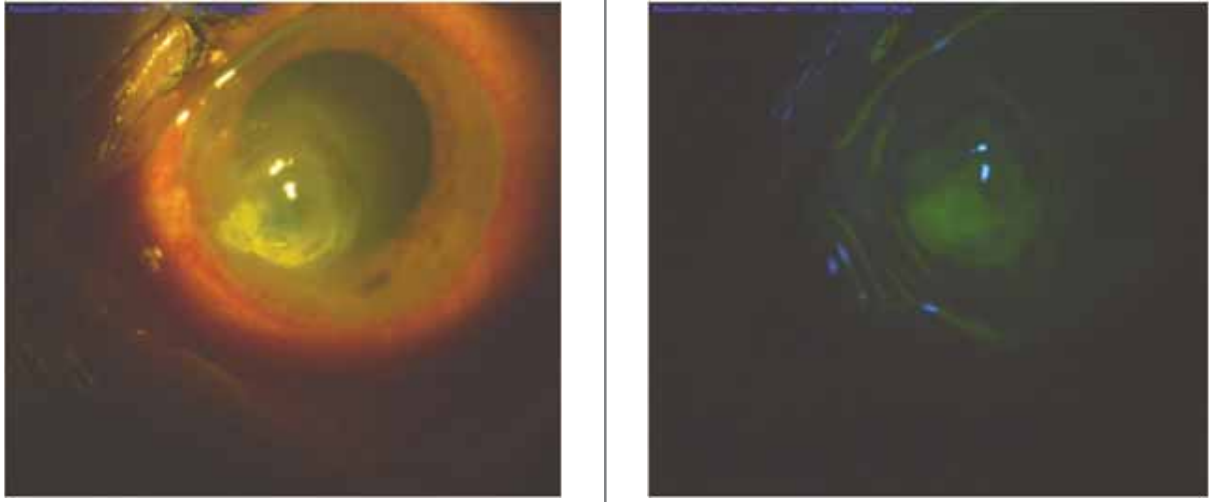


**Рис. 3.** Больной А., поступил с диагнозом «травматический кератит» через месяц после удаления металлического инородного тела в районной поликлинике.



**Рис.4,5.** Больной Г., поступил с диагнозом «травматический кератит» через 2 месяца после травмы веткой дерева.

Для сравнения было также проведено определение в сыворотке крови уровня антител класса IgM и классически используемых в диагностике в таких случаях высокоавидных IgG к структурным антигенам ВПГ1 и ВПГ2 у данной категории больных.



**Рис. 6,7.** Больная Д., поступила с диагнозом «гнойная язва роговицы» через девять дней после травмы инородным телом.

Уровень антител класса IgM не превышал референсных значений, что отрицает первичный характер заражения. Содержание высокоавидных IgG у 7 больных был в пределах нормы, у остальных был повышен незначительно относительно нормативных значений. Количество этих антител у носителей может варьировать в зависимости от стадии заболевания, от состояния иммунной системы пациента вообще и на момент обследования в частности. Например, при наличии иммуносупрессии, которую может вызывать длительное течение хронической вирусной инфекции, во время рецидива количество поздних IgG совсем не увеличивается, или увеличивается, но не в 2 - 4 раза, как при классическом иммунном ответе на рецидив. Поэтому количественный показатель IgG далеко не всегда обладает диагностической ценностью, даже в динамике. Т.е., определение уровня антител к неструктурным антигенам ВПГ1 и ВПГ2 являлся единственным серологическим критерием реактивации инфекции в рассматриваемых случаях.

У этих пациентов клиническое течение развившегося вследствие травмы патологического состояния роговицы (кератита, кератоиридоциклита, кератита с признаками изъязвления и т.д.) отличалось упорной, неподдающейся традиционным методам лечения динамикой и торпидным, затяжным периодом выздоровления (рис.3,4,5,6,7). Но симптоматика кератита не была проявлением классического офтальмогерпеса. Следовательно, реактивированный вирус герпеса играл здесь триггерную роль и способствовал осложнённого течения травматического кератита (герпесассоциированная офтальмопатология). В свою очередь, травма был пусковым фактором для реактивации вируса герпеса. Также имеет значение перенесенный посттравматический стресс, оказывающий своё немаловажное иммуносупрессорное воздействие. Необходимо отметить, что изменения системного иммунитета бывают обусловлены как влиянием самого травмирующего фактора, так и воздействием перенесенного стресса. По классификации Михайленко А.А. и соавт. (2005), такой комплекс изменений иммунной системы относится к вторичным реконвалесцентным транзиторным иммунодефицитам. При этом авторы выделяют два типа структурных нарушений иммунного статуса: 1) изменения, характеризующие ущерб, нанесенный острым патологическим процессом; 2) изменения, возникающие для ликвидации или компенсации нанесенного ущерба. Если длительность второго типа нарушений превышает время реконвалесценции, то это может свидетельствовать о нарушении механизмов компенсации и способствовать формированию хронической патологии. По-видимому, это и обусловило реактивацию герпетической инфекции, находящейся в латентном состоянии у таких больных.

#### **Выводы.**

1. Определение антител класса IgG к неструктурным антигенам ВПГ1 и ВПГ2 у больных с осложнённым течением травматического кератита и кератоиридоциклита может служить важным серологическим диагностическим критерием для оценки реактивации герпетической инфекции.
2. Выявление реактивации герпетической инфекции направит врача на усиление противовирусной терапии и проведение соответствующего иммунокорректирующего лечения в реабилитационном периоде для предотвращения повторных рецидивов заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кускова Т. К., Белова Е. Г. Семейство герпесвирусов на современном этапе // Лечащий Врач, М., № 05, 2004.
2. Mertz G. et al.. Oral famciclovir for suppression of recurrent genital herpes simplex virus infection in women. Collaborative Famciclovir genital herpes group // A multicenter double-blind, placebo-controlled trial, 1997, v.157, N 3, p.343-349.
3. Schacker T. et al. Famciclovir for the suppression of symptomatic and asymptomatic herpes simplex virus reactivation in HIV-infected persons // A double-blind, placebo-controlled trial: Ann Intern Med., 1988, v.128, N1, p.21-28.
4. Кричевская Г.И. и др. Выявление IgG- и IgM-антител к вирусу простого герпеса 1 типа (ВПГ 1) при реактивации латентной инфекции / Мат. VIII конгресса Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии, М., 2007, 27-29 июня, РААКИ.
5. Кричевская Г.И., Майчук Ю.Ф., Вахова Е.С. Способ прогнозирования риска рецидивирования герпесассоциированных заболеваний глаз: Патент от 02.11.2007.

Namazova I.K., Məcidova S.R., Şamilova F.Q., Zərgərli I.A.

## GÖZ ZƏDƏSİNİN SONRAKI DÖVRÜNDƏ HERPETİK İNFEKSIYANIN REAKTIVASIYASININ KILINIKO-IMMUNOLOJİ QIYMTLƏNDİRİLMƏSİ.

*Akademik Zərifə Əliyeva adına Milli Oftalmologiya Mərkəzi, Bakı şəhəri.*

**Açar sözlər:** “erkən” antigenlər, herpes virusları, reaktivasiya, travmatik keratit

### XÜLASƏ

**Məqsəd.** Buynuz qişanın zədədən sonrakı patoloji vəziyyətində I və II tipli herpes virusunun qeyristruktur olan antigenlərə qarşı IgG zərdab anticisimlərin təyin olunmasının diaqnostik əhəmiyyətinin qiymətləndirilməsi idi.

**Material və metodlar.** “Travmatik keratit” diaqnozu ilə stasionara daxil olan 37 nəfər xəstənin klinik-immunoloji müayinəsinin nəticələri təqdim olunmuşdur. Herpes virusunun reaktivasiyasının markörü rolunda virusun requlyator “erkən” antigenlərə qarşı immunoferment analizi ilə təyin olunmuş IgG zərdab anticisimləri seçilmişdi.

**Nəticələr.** Herpes I virusunun antigenlərinə qarşı qeyd olunmuş anticisimlərin yüksək səviyyəsi 35,1% , herpes II virusunun antigenlərinə qarşı - 16,2% hallarda təyin olunmuşdur. 5 xəstədə eyni zamanda həm herpes I, həm də herpes II virusların “erkən” antigenlərinə qarşı IgG autoanticisimlər tapılmışdır. Bu pasiyentlərdə zədə nəticəsində əmələ gəlmiş buynuz qişanın patoloji vəziyyətlərinin kliniki gedişi ifadə olunmuş simptomatikası və uzun sürən sağalma müddəti ilə fərqlənirdi.

Bir aydan sonra tədqiq olunan anticisimlərin səviyyəsi normativ göstəricilərə qayıdırdı. Bu kliniki hallar klassik oftalmoherpelin nümunələri kimi təqdim etmək olmaz idi. Burada travmatik keratitinn fəsadlı gedişində herpes virusunun triqger əhəmiyyəti var idi (herpes assosiyasiya olunmuş oftalmopatologiya).

**Yekun.** Herpes virusunun “erkən” qeyristruktur antigenlərə qarşı IgG anticisimlərinin təyin olunması travmatik keratit və keratoiridosiklit ilə olan xəstələrdə bu qorxulu infeksiyanın reaktivasiyasının aşkar edilməsi üçün vacib diaqnostik əhəmiyyəti var. Bu, lazım olan müalicəvi tədbirlərin aparılmasına və xəstəliyin təkrar residivlərinin qarşısının alınmasına imkan yaradacaqdır.

CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL EVALUATION OF REACTIVATION OF  
HERPETIC INFECTION AFTER EYE TRAUMA.

*National Center of Ophthalmology named after acad. Zarifa Aliyeva, Baku*

**Key words:** early antigens, herpes viruses, reactivation, traumatic keratitis.

## SUMMARY

**Purpose.** The article presents the results of clinical and immunological examination of 37 patients with traumatic keratitis who were hospitalized to the department of trauma, plastic and reconstructive surgery of the eye at the National Center of Ophthalmology named after acad. Zarifa Aliyeva.

**Methods.** IgG antibodies to the nonstructural «early» regulatory viral antigens have been selected as a marker of reactivation of herpesviruses (ELISA).

**Results.** High level of IgG antibodies to the non-structural antigens of herpes simplex virus 1 has been detected in 35.1%, to antigens of herpes simplex virus 2 - in 16.2% of cases. At the same time the studied antibodies to HSV1 and HSV2 antigens have been detected in 5 patients. The clinical course of traumatic keratitis in these patients was notable for most apparent symptoms of corneal syndrome, and a long period of recovery. Return to the normative values of the studied antibodies has been observed a month later. These clinical cases are not examples of classical ophthalmic herpes. Here, the herpes virus played a trigger role in the complicated course of traumatic keratitis (herpes associated ophthalmic pathology).

**Conclusion.** Determination of IgG antibodies to the «early» nonstructural antigens of herpes virus plays an important role to detect reactivation of this dangerous infection in patients with traumatic keratitis. It will allow using appropriate therapy and preventing repeated recurrences of the disease.

## Для корреспонденции:

Намазова Иджран Камал кызы, кандидат медицинских наук, заместитель директора по научным вопросам Национального Центра Офтальмологии им. академика Зарифы Алиевой

Шамилова Фаига Гаджибала кызы, кандидат медицинских наук, руководитель отдела травмы глаза, пластической и реконструктивной хирургии

Меджидова Сабина Ромель кызы, доктор философии по медицине,  
заведующий лабораторно-диагностическим отделом

Заргарли Ильхам Агасаф оглы, старший научный сотрудник отдела травмы глаза, пластической и реконструктивной хирургии

*Адресс: AZ1114, г.Баку, ул. Джавадхана, 32/15*

*Тел...: (+994 12) 569 09 73; 569 54 62*

*E-mai: administrator@eye.az; http://www.eye.az*