

МАРКЕРЫ ВИРУСОВ ПРОСТОГО ГЕРПЕСА ПРИ ВЕЗИКУЛО-БУЛЛЕЗНЫХ ПОРАЖЕНИЯХ КОЖИ

Запольский М.Э.

Одесский областной кожно-венерологический диспансер

Резюме. *Определены типы вирусов простого герпеса из очагов поражения при генитальном, экстрагенитальном герпесе и герпес-ассоциированной многоморфной экскудативной эритеме.*

Ключевые слова: *вирус простого герпеса, герпес-ассоциированная многоморфная экскудативная эритема, полимеразная цепная реакция, иммуноферментный анализ, диагностика.*

ВВЕДЕНИЕ

О некоторых проявлениях герпесвирусных инфекций (ГВИ) люди знали еще в древности. «Лихорадочное заболевание», сопровождающееся пузырьковыми высыпаниями на коже, было описано в 100 г. до нашей эры римским врачом Герадонтом, описания герпеса встречаются и в трактатах Гиппократ, Авиценны, Парацельса («herro» древн. греч. – ползать). Жан Аструк в 1730 году впервые клинически отдифференцировал генитальный герпес от сифилиса. Первое подробное описание герпетического поражения роговицы принадлежит Ногер I. (1871). В течение длительного времени этиология заболевания была неясной. В 1904 г Ribbert описал гистопатологические изменения в виде больших клеток с внутриклеточными включениями по типу «совиного глаза» в тканях инфицированных новорожденных, но ошибочно связал эти изменения с простейшими и назвал их *Entamoeba mortinatalium*. Наиболее достоверные сведения были получены после того, как W. Gruter в 1912 году смоделировал вирусный кератоконъюнктивит у кролика, зараженного секретом из герпетических пузырьков больного человека [2, 6, 20, 22]. Ж. Дарье в 1919 году предположил наличие «инфрами-

кробов», способствующих развитию целого ряда заболеваний кожи. Автор утверждал, что «микроб, который не найден и не известен, может передаваться фильтратом...», хотя фильтрат не содержит никаких доступных зрению или способных давать культуры возбудителей». Уже тогда Дарье выделил целую группу вирусных дерматозов: herpes simplex, zona, контагиозный моллюск, «бородавчатые разрастания гениталий» (остроконечные кондиломы). Ошибочно к этой группе были отнесены и некоторые бактериальные заболевания: сыпной тиф, туберкулез. Хотя возбудитель туберкулеза был выделен ранее, автор предположил наличие вирусных «фильтрующихся форм туберкулезной бациллы», приняв за возбудителя действие на организм токсинов палочки Коха. Чуть позже, в 1920 году Godpasture O. выдвинул предположение о вирусной этиологии внутриклеточных включений при герпесе. Lipschutz в 1921 году подробно описал, видимые в световом микроскопе ацидофильные включения и связал их с герпесвирусом. В 1926 году Flanden V. на конгрессе в Брюсселе сообщил о том, что ветряная оспа и «zona» могут рассматриваться, как две стадии одного заболевания, вызванного одним и тем же «патогенным агентом вирусной этиологии» [3, 5].

Возможности изолировать герпесвирусы появились у ученых позже. Так вирус простого герпеса (ВПГ) был выделен в 1946 году, а вирус опоясывающего лишая в 1952 г. (Wyller T.). В 1951 г. был выделен цитомегаловирус человека, а позже в 1954 г. С. Andrews составил номенклатуру вирусов семейства герпеса [15, 17, 23]. Герпесвирусы относятся к числу наиболее распространенных инфекций, способных поражать человеческий организм. Вызываемые ими заболевания, характеризуются полиморфизмом клинических проявлений и иммунологических нарушений [1, 4, 19].

Многие заболевания с невыясненной этиологией сегодня все чаще связывают с герпесвирусной инфекцией. К данной группе относят: полиморфную экссудативную эритему, лимфопролиферативные синдромы, атеросклероз, некоторые разновидности аритмий и артериальной гипертензии, рассеянный склероз, тромбоцитопении, ряд онкологических процессов. В 35-40% случаев синдром Стивенса-Джонсона рассматривают, как тяжелое проявление полиморфной экссудативной эритемы с вирусной этиологией, имеются сообщения о герпесвирусных поражениях поджелудочной железы, печени с последующим развитием метаболического синдрома и сахарного диабета, описан целый ряд психоневротических расстройств, индуцированных герпетическим повреждением структур головного мозга и ряд других заболеваний [7, 9, 11, 12, 17].

Вопрос лабораторной диагностики герпесвирусных инфекций и герпес-ассоциированных заболеваний кожи, в настоящее время, остается не до конца изученным [5, 17]. Для достижения диагностической достоверности лабораторных исследований, пациентов с подозрением на герпесвирусную инфекцию обследуют сразу несколькими методами: ПЦР (количественное) и ИФА, ПЦР и РИФ и др. Для правильной интерпретации лабораторных данных учитывают стадию заболевания, активность процесса, данные анамнеза, используемые ранее методы лечения (активная иммунизация, супрессивная противовирусная терапия) [16, 18, 20, 21].

Цель работы – изучить маркеры вирусов простого герпеса типов 1 и 2 в очагах клинических проявлений генитального, экстрагенитального герпеса и герпес-ассоциированной многоморфной экссудативной эритемы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были обследованы 82 пациента, находившихся под наблюдением в Одесском областном кожно-венерологическом диспансере. Из них у 39 герпес-ассоциированная многоморфная экссудативная эритема (ГМЭЭ) развилась на фоне генитального герпеса, у 43 на фоне экстрагенитального герпетического процесса.

Был проведен анализ частоты выделения ВПГ 1 и 2 типов (при помощи ПЦР) у обследуемых пациентов основной группы и группы сравнения, как непосредственно из герпетических везикул, так и из содержимого буллезных элементов при ГМЭЭ. Использовали ПЦР-праймеры специфичные для *Herpes simplex*, типы 1-2 – 5'-GTACAGACCTTCGGAGG-3' и 5'-CGCTTCATCATGGGC-3' (Kimura et al., 2006) [21]. Режим амплификации (40 циклов): 94°C – 30 с, 60°C – 40 с, 72°C – 50 с на амплификаторе «Терцик» (Россия). Ампликон размером 227 нуклеотидных пар выявляли электрофорезом в геле агарозы с этидия бромидом.

Забор материала при генитальных формах герпеса осуществлялся на 2-7 дни заболевания у 39 пациентов (20 пациентов основная группа, 19 - контрольная группа). При этом исследованию подлежала серозная жидкость герпетических везикул, полученная при их вскрытии с использованием стерильного скарификатора. Тестировали образцы из разных, максимально отдаленных друг от друга пузырьков. В некоторых случаях исследовали материал со дна эрозий. Забор осуществляли при помощи стерильного ватно-марлевого тампона. Дополнительно динамическому обследованию подлежала сыворотка крови больных. Исследование проводилось с использованием иммуноферментного анализа (тест-системы фирмы «Chemo», Россия). Применяли метод

твердофазного иммуноферментного анализа и его модификацию, основанную на синтезе ферментных конъюгатов (тИФА). Использование нитроцеллюлезных фильтров позволило определять антитела к более широкому спектру вирусных протеинов и дифференцировать один тип вируса от другого.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Среди пациентов основной группы в 30% (6 пациентов) случаев был выявлен

вирус герпеса 1 типа, у 11 (55%) больных - вирус герпеса 2 типа, а у 2 (10%) больных - вирусы герпеса и 1 и 2 типов. В 5% случаев вирус герпеса не обнаружен. В группе сравнения вирус герпеса 1 типа был выявлен у 7 (36, 8%) пациентов, вирус герпеса 2 типа у 10 (52,6%) пациентов. Одновременно и 1 и 2 типы вируса герпеса не были выявлены ни у одного пациента из группы сравнения, а число отрицательных результатов исследования достигло 10,6%. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Частота выявления ВПГ 1 и 2 типов из очагов поражения генитального герпеса методом ПЦР

Тип ВПГ	Основная группа (20 больных)		Группа сравнения (19 больных)		Всего (39 больных)	
	абс	%	абс.	%	абс.	%
ВПГ-1	6	30,0	7	36,8	13	33,4
ВПГ-2	11	55,0	10	52,6	21	53,8
ВПГ-1, 2	2	10,0	-	-	2	5,2
Не выявлен	1	5,0	2	10,6	3	7,6

Общее количество положительных результатов составило 19 пациентов (95%) в основной группе и 17 (89,4%) в группе сравнения, всего 36 пациентов (92,3%), что подтверждает высокую информативность амплификационного метода исследования. Вместе с тем, не смотря на типичную клиническую картину генитального герпеса у 1 (5%) пациента основной группы и 2 (10,6%) пациентов группы сравнения маркеры герпесвирусов 1-2 типов не были выявлены.

У 43 пациентов находившихся под нашим наблюдением (23 пациента основная группа, 20 - контрольная группа) ГМЭЭ предшествовал экстрагенитальный герпес. В зависимости от локализации герпетического процесса забор материала осуществлялся из очагов поражения в области красной каймы губ у

14 пациента (32,5%), глотеальной зоны у 10 (23,3%), слизистой ротовой полости у 6 (13,9%), в области носа - 4 (9,3%), кожи щек - 4 (9,3%), в области века у 1 (2,3%) пациента.

При исследовании материала из очагов поражения экстрагенитальных форм герпеса в 69, 6%(16 больных) случаев у пациентов основной группы был выделен ВПГ-1, в 21, 7% (5 больных) случаев - вирус герпеса 2 типа. Результаты исследования оказались отрицательными у 2 (8,7%) пациентов основной группы. В группе сравнения наблюдалась схожая картина ПЦР исследований, вирус герпеса 1 типа был выявлен у большинства пациентов - 11 (55%), вирус герпеса 2 типа у 7(35%) пациентов, в 5% (у 1 больного) случаев маркеры герпесвирусов не выявлены (таблица 2).

Частота выявления ВПГ 1 и 2 типов из очагов поражения экстрагенитального герпеса методом ПЦР

Тип ВПГ	Основная группа (23 больных)		Группа сравнения (20 больных)		Всего (43 больных)	
	абс	%	абс.	%	абс.	%
ВПГ-1	16	69,6	11	55	27	62,7
ВПГ-2	5	21,7	7	35	12	27,9
ВПГ-1, 2	-	-	1	5	1	2,4
Не выявлен	2	8,7	1	5	3	6,9

Помимо герпетических везикул исследованию подлежала серозная жидкость буллезных элементов (либо скарификационный материал со дна эрозий) при ГМЭЭ. Материал получали из нескольких максимально отдаленных друг от друга очагов поражения. Результаты ПЦР показали, что выявляемые типы герпесвирусов при ГМЭЭ, соответствуют таковым при генитальных, экстрагенитальных формах герпетического про-

цесса, предшествовавшего многоморфной экссудативной эритеме. Так у 18 (42,8%) пациентов основной группы был обнаружен ВПГ-1, у 11(26,2%) выявлен ВПГ-2, сочетание герпесвирусов 1-2 типов было выявлено у 5 (11,9%) пациентов основной группы. В группе контроля, ВПГ-1 обнаружен у 15 (37,5%) пациентов, а ВПГ-2 у 13 (12,5%), сочетание вирусов отмечено в 17,5% случаев (таблица 3).

Таблица 3

Частота выявления ВПГ 1 и 2 типов из очагов поражения ГМЭЭ методом ПЦР

Тип ВПГ	Основная группа (42 больных)		Группа сравнения (40 б) (40 больных)		Всего (82 больных)	
	абс	%	абс.	%	абс.	%
ВПГ-1	18	42,8	15	37,5	33	40,2
ВПГ-2	11	26,2	13	32,5	24	29,3
ВПГ-1, 2	5	11,9	5	12,5	10	12,2
Не выявлен	8	19,1	7	17,5	15	18,3

Необходимо отметить, что в 18,3% (15 больных) случаев ПЦР-маркеры герпесвирусов не были выявлены вообще, несмотря на типичную клиническую картину. Это можно объяснить нарушениями техники забора

материала, снижением вирусной нагрузки в очагах поражения, использованием топических противовирусных средств, связью процесса с другими подтипами герпесвирусов, что требует дальнейшего изучения.

Пациенты основной группы применяли антигистаминные средства, аномальные нуклеотиды (вальтрекс) в сочетании со специфическими противогерпетическими иммуноглобулинами. Пациенты группы сравнения получали стандартное лечение, включающее антигистаминные и детоксикационные средства. Параллельно пациентам основной и сравнительной групп на 3-6 день заболевания и через 30 дней после лечения определяли специфические противогерпетические антитела класса Ig M и IgG. При обследовании больных рецидивирующими формами герпеса методом ТИФА установлено, что у 7 (16,3%) пациентов содержание специфического IgG находилось в пределах допустимой нормы (ниже диагностически значимых титров) как в период обострения заболевания, так и в стадию ремиссии.

У пациентов основной группы отмечен рост специфического иммуноглобулина М к вирусам герпеса 1-2 типа, как до лечения - 2, 8±0,6г/л, так и после - 3,6±0,7 г/л. Кроме того, наблюдался значительный рост специ-

фического иммуноглобулина G к вирусам герпеса 1-2 типов с 2,7±0,9 г/л до 4,3±2,1 г/л. Нарастание специфических иммуноглобулинов М и G, за короткий промежуток времени, обусловлено проводимой серотерапией. При этом у лиц контрольной группы показатели специфических иммуноглобулинов М и G к ВПГ 1-2 были достоверно ниже и составили 1, 7±0,3 г/л и 2,1±0,5 г/л соответственно (таблица 4).

В сравнительной группе через месяц после лечения наблюдалось снижение уровня специфического иммуноглобулина G как к 1-2, так и ко 2 типам вируса герпеса с 2,9±0,7 г/л до 2,6±1,5 г/л, и с 2,7±0,6 г/л до 2,5±0,9 г/л, соответственно. Однако, клиническая активность герпесвирусного процесса, несмотря на снижение уровня специфического иммуноглобулина G после лечения, сохранялась высокой у 13 (32,5%) пациентов контрольной группы. Это свидетельствует об иммунной ареактивности и неспособности иммунокомпетентных клеток продуцировать высокоавидные иммуноглобулины (таблица 4).

Таблица 4

Определение специфических противогерпетических антител у пациентов основной, сравнительной и контрольной групп до и через 1 месяц после лечения

Тип Ig (значение коэффициента)	Основная группа		Сравнительная группа		Контрольная группа г/л
	До лечения г/л	После лечения г/л	До лечения г/л	После лечения г/л	
IgM(ВПГ1-2)	2,8 ±0,6	3,6±0,7	2,2±1,1	2,1±0,6	1,1±0,3
Ig G(ВПГ1-2)	2,7±0,9	4,3±2,1	2,9±0,7	2,6±1,5	1,9±0,5
IgM (ВПГ-2)	2,1±0,7	3,2±0,9	3,1±0,8	3,2±0,5	1,2±0,8
Ig G (ВПГ-2)	2,8±0,3	3,35±1,2	2,7±0,6	2,5±0,9	1,9±0,4

Примечание: различия достоверны по отношению к контрольной группе (p<0,05). Норма IgG: 0,9-2,0 г/л; норма IgM: 0,3-1,1г/л

Результаты определения специфических противогерпетических антител у пациентов основной группы показали достоверное повышение IgG после лечения, что свидетельствовало об эффективности проводимой терапии и накоплении в периферической крови высокоавидных антител, способных подавлять

активную фазу герпесвирусной инфекции. Подобный рост противогерпетического IgG объяснялся использованием специфической иммуноглобулинотерапии у пациентов основной группы. До лечения IgM к ВПГ-2 составлял 2,1±0,7 г/л, IgG 2,8±0,3 г/л, после лечения 3,2±0,9 г/л и 3,35±1,2 г/л соответственно.

При проведении специфической серотерапии мы наблюдали эффект Тонегавы «идиотип-антиидиотипические взаимодействия» [14]. В основе процесса лежит отсроченная выработка эндогенных иммуноглобулинов в ответ на проводимую иммуноглобулинотерапию. Этот процесс объясняет пролонгированный рост специфических IgM и IgG к ВПГ 1 и 2 у пациентов основной группы. Таким образом, достигается эффект не только активной, но и пассивной иммунизации, нарастание специфических высокоавидных иммуноглобулинов, что клинически проявилось стойкой ремиссией.

ВЫВОДЫ

1. Частота выявления маркеров герпесвирусов при вирус-ассоциированных процес-

сах высока, как при использовании амплификационных методов диагностики, так и методов иммуноферментного анализа.

2. Маркеры герпесвирусов выявлены из очагов поражения при генитальных, экстрагенитальных формах герпеса в $92,3 \pm 2,9$ % и $93,1 \pm 2,6$ % соответственно, а так же в острый период герпес-ассоциированной многоморфной эксудативной эритемы в $81,7 \pm 4,3$ % случаев.

3. Высота титра IgG не свидетельствует о клиническом статусе пациента, в подозрительных случаях необходимо динамическое наблюдение за нарастанием титров парных сывороток.

4. Определение герпесвирусов при везикуло-буллезных процессах кожи представляет диагностическую ценность и помогает в выборе терапевтической тактики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Арутюнов Г.П. Стресс и атеросклероз: позиция кардиолога / Г.П. Арутюнов // Здоров'я України. – 2007. – № 9 (166). – С. 56–57.
2. Герпес: этиология, диагностика и лечение / И.Ф. Баринский, А.К. Шубладзе, А.А. Каспаров, В.Н. Гребенюк. – М. : Медицина, 1986. – 268 с.
3. Дарье Ж. Основы дерматологии / Ж. Дарье. – М. : Госиздат, 1930. – С. 65–73.
4. Дубосарская З.М. Герпетическая инфекция у женщин: сложности в решении проблемы / З.М. Дубосарская, Ю.А. Дубосарская // Мед. аспекты здоровья женщины. – 2007. – №5 (8). – С. 38–39.
5. Каримова И.М. Герпесвирусная инфекция, диагностика, клиника, лечение / И.М. Каримова; под ред. Ю.К. Скрипкина. – М. : Медицинское информационное агентство, 2004. – 120 с.
6. Коляденко В.Г. Герпесвирусные заболевания как междисциплинарная проблема / В.Г. Коляденко // Новости медицины и фармации. – 2007. – № 5 (209). – С. 11–13.
7. Мавров Г.И. Психосексуальные аспекты урогенитальных инфекций у женщин / Г.И. Мавров // Медицинские аспекты здоровья женщины. – 2008. – № 3 (12). – С. 44–49.
8. Мавров И.И. Инфекционные поражения половых путей вирусом простого герпеса / И.И. Мавров // Половые болезни. – К. : Українська енциклопедія, 1994. – С. 300–303.
9. Мальцев Д.В. Верификация и лечение герпесвирусной инфекции у женщин больных мигренью без ауры / Д.В. Мальцев // Клиническая иммунология, аллергология, инфектология. – 2008. – № 1 (12). – С. 86–88.
10. Нагорная Н.В. Герпесвирусные заболевания как междисциплинарная проблема / Н.В. Нагорная // Новости медицины и фармации. – 2007. – № 5 (209). – С. 13.
11. Папий Н.А. Кожные заболевания. Психодиагностика и психокоррекция / Н.А. Папий. – Минск : «Полымя», 2003. – С. 73–80.
12. Самгин М.А. Простой герпес (дерматологические аспекты) / М.А. Самгин, А.А. Халдин. – М. : МЕДпресс-информ, 2002. – 160 с.

13. Соколовский Е.В. Лимфомы кожи. Урогенитальная герпесвирусная инфекция / Е.В. Соколовский. – СПб. : «СОТИС», 2000. – С. 111–135.

14. Танегава С. Строение генов, кодирующих две основные цепи иммуноглобулинов, механизмы транскрипции / С. Танегава // Основы иммунологии / Пер. с англ. – М. : Медицина, 1985. – С. 97–98.

15. Хаитов Р.М. Экологическая иммунология / Р.М. Хаитов, Б.В. Пинегин, Х.И. Истамов. – М. : ВНИРО, 1995. – 219 с.

16. Халдин А.А. Изучение эффективности различных методов терапии больных рецидивирующим герпесом с использованием индукторов интерферона и рекомбинантного альфа-2-интерферона : автореф. дис. на соискание учен. степени канд. мед. наук: спец. 14.00.11 «Кожные и венерические болезни» / А.А. Халдин. – М., 1995. – С. 18–23.

17. Халдин А.А. Иммунологическое обоснование дифференцированных подходов к терапии простого герпеса : автореф. дис. на соискание учен. степени д-ра мед. наук: спец. 14.00.11 «Кожные и венерические болезни» / А.А. Халдин. – М., 2000. – 47 с.

18. Цинзерлинг В.А. Простой герпес (этиология, диагностика, клинико-анатомические проявления) / В.А. Цинзерлинг. – Ленинград : ЛПМИ, 1998. – С. 15–32.

19. Шастина Г.В. Поражение кишечника при герпетической инфекции у детей. Простой герпес / Г.В. Шастина; под ред. А.В. Цинзерлинга. – Ленинград : ЛПМИ, 1988. – С. 35–37.

20. Chaudhuri A. Diagnosis and treatment of viral encephalitis / A. Chaudhuri, P. Kennedy // Postgrad. Med. J. – 2002. – Vol. 78. – P. 575–583.

21. Detection and direct typing of herpes simplex virus by polymerase chain reaction / H. Kimura, M. Shibata, Y. Kuzushima, T. Morishima // Med. Microbiol. Immunol. – 2006. – Vol. 179. – P. 177–184.

22. Gruter W. Experimentelle und klinische untersuchungen uber den sogenanted Herpes corneae / W. Gruter // Klin. Mbl. Augenheilk. – 1920. – Bd. 65. – S. 398.

23. Nikkari S. Genital herpes and its management / S. Nikkari // Brit. Med. J. – 2007. – Vol. 334. – P. 1048–1052.

МАРКЕРИ ВІРУСІВ ПРОСТОГО ГЕРПЕСУ ПРИ ВЕЗИКУЛО-БУЛЬОЗНИХ УРАЖЕННЯХ ШКІРИ

М.Е. Запольський

Резюме. Визначено типи вірусів простого герпесу з осередків ураження при генітальному, екстрагенітальному герпесі та герпес-асоційованій багатомформній ексудативній еритемі.

Ключові слова: вірус простого герпесу, герпес-асоційована багатомформна ексудативна еритема, полімеразна ланцюгова реакція, імуноферментний аналіз, діагностика.

MARKERS FOR HERPESVIRUSES IN VESICLES AND BULLOUS SKIN LESIONS

M.E. Zapolskiy

Resume. The types of herpes simplex virus from the lesions in genital, extra-genital herpes and herpes-associated multiform exudative erythema are identified.

Key words: herpes simplex virus, herpes-associated multiform exudative erythema, polymerase chain reaction, immunoenzyme analysis, diagnostics.