

ВЕРИФІКАЦІЯ АКТИВНИХ ФОРМ ГЕРПЕСВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ У ПАЦІЄНТІВ З ЗАПАЛЬНИМИ ЗАХВОРЮВАННЯМИ ОЧЕЙ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ІМУНОТРОПНОЇ ТЕРАПІЇ

Н.С.Удовенко, В.Є.Казмірчук

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця

Вступ

Вибір напряму нашого дослідження обумовлений, перш за все, високою поширеністю герпесвірусної інфекції у людській популяції. Різноманіття клінічних проявів хвороби, морфологічних особливостей збудників, можливість їх розповсюдження практично всіма відомими шляхами передачі дозволило Європейському регіонарному бюро ВОЗ віднести герпесвірусні інфекції до групи найбільш розповсюджених неконтрольованих інфекцій людини в світі [13]. Чисельні епідеміологічні дослідження підтверджують збільшення захворюваності та поширеності герпесвірусної інфекції в усьому світі. За статистичними даними від 80 до 90 % дітей старших 3 років інфіковано вірусом простого герпесу, зі збільшенням віку відсоток інфікованих вірусом простого герпесу та цитомегаловірусом досягає 95 - 98 % [2]. Незважаючи на високий ступінь інтересу до проблеми вивчення особливостей взаємодії вірусів родини герпесу та імунної системи пацієнтів з рецидивуючими формами герпесвірусної інфекції, досі залишаються невирішеними питання щодо зниження частоти рецидивів, уніфікації методів діагностики та лікування різних клінічних форм герпесвірусної інфекції.

Поряд з цим, серйозною проблемою практичної офтальмології є офтальмогерпес. Це пов'язано з рецидивуючим перебігом захворювання, що часто призводить до зниження зору, аж до сліпоти. Рецидивуючий герпес рогівки - захворювання, яке стало в країнах помірною поясу однією з ведучих причин інвалідізуючих помутнінь рогівки та рогівкової сліпоти. Варто відзначити, що кожен наступний рецидив має важчий перебіг, частіше призводить до утворення помутнінь рогівки, що потребує проведен-

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

ня кератопластики. Ураження можуть ускладнюватись супутньою інфекцією, метаболічними ураженнями тканин очей, підвищенням внутрішньоочного тиску та розвитком катаракти [3]. Офтальмогерпес вражає переважно молоде працездатне населення, що також є одним із аспектів актуальності проблеми.

Останнім часом захворюваність на офтальмогерпес неухильно зростає по всьому світу. За даними Відділення реконструктивної хірургії ока НДІ очних хвороб РАМН, понад 35 % хворих, які поступають для кератопластики протягом 10 останніх років, мали ураження герпетичної етіології. Відповідно аналізу, який було проведено в Московському НДІ очних хвороб ім. Гельмгольца, герпетичний кератит склав 66,6 % з загального числа 4132 хворих з рогівковою патологією. В США щорічно реєструється близько 500 000 випадків герпетичних кератитів. Дослідження, проведені в період 1985-1987 р. в очній клініці Бристолья (Англія), показали, що на 863 000 населення щорічно реєструвалось 120 випадків первинного герпетичного кератиту, що відповідає частоті виявлення первинного герпетичного кератиту приблизно 1:80. Ці розрахунки узгоджуються з даними, які приводяться різними авторами. Окрім того, з кожним роком відмічається більш важкий перебіг герпесвірусних захворювань очей.

В роботах різних авторів наведено досить суперечливі дані щодо етіологічної ролі певних вірусів родини герпесу в розвитку запальних захворювань очей. Провідна роль в розвитку вказаної патології відводиться переважно вірусу простого герпесу [5, 14, 15, 16, 18] та, інколи, цитомегаловірусу [7, 20, 21].

На нашу думку, для вирішення питання ефективної профілактики рецидивів офтальмогерпесу та розвитку ускладнень захворювання необхідно, в першу чергу, з'ясувати, які саме віруси родини герпесу беруть участь в розвитку часто рецидивуючих форм запальних захворювань очей.

Мета дослідження - верифікація активних форм герпесвірусної інфекції у пацієнтів з запальними захворюваннями очей при застосуванні імунотропної терапії.

Матеріали та методи дослідження

Відповідно до змети нашого дослідження та сучасних уявлень про методи діагностики вірусних інфекцій ми вважали за

Екологічна і клінічна імунологія та імунореабілітація

необхідне проводити визначення ДНК вірусів родини герпесу (HSV1/2, VVZ, CMV, EBV, HHV6) хворих дослідної групи методом кількісної полімеразної ланцюгової реакції.

Оскільки у хворих на офтальмогерпес вхідними воротами інфекції є верхні дихальні шляхи та при об'єктивному обстеженні було виявлено супутню патологію з локалізацією на слизових оболонках, виявлення герпесвірусів проводили у крові, слині та слізній рідині одночасно. Результати досліджень отримували у вигляді абсолютних чисел (кількість вірусних частинок у пробі) та у вигляді числа, що відображало кратність перевищення рівня позитивного контролю з боку кількості вірусної ДНК у пробі, що дозволяло нівелювати похибку методу, яка, як відомо, змінюється при кожній постановці.

В дослідженні брали участь 60 хворих на офтальмогерпес, яким проводили детекцію вірусної ДНК в динаміці спостереження для постановки та підтвердження діагнозу, а також до і після терапії для оцінки її ефективності. Також визначення активності реплікації вірусів родини герпесу проводилося у 20 хворих групи порівняння, які вже отримували стандартну терапію препаратами групи ацикловіру, місцевими глюкокортикостероїдами та не отримували терапію за запропонованою в роботі схемою.

Отримані результати та їх обговорення

Після проведення вказаних досліджень було встановлено, що при паралельному вивченні слини та слізної рідини активна герпетична інфекція була верифікована у всіх обстежених хворих (60 пацієнтів, 100 %), які і склали дослідну групу. Верифікацію активних форм герпесвірусної інфекції проводили в динаміці спостереження і щоразу при повторних ПЛР дослідженнях діагноз підтверджувався. Така висока частота виявлення активної реплікації вірусів родини герпесу у обстежених пацієнтів була обумовлена відбором хворих з клінічною картиною, характерною саме для вірусних уражень очей. Таким чином, у хворих дослідної групи саме віруси родини герпесу є одним із етіологічних чинників органічних уражень тканин ока та іншої клінічної симптоматики, яка була виявлена під час клініко-анамнестичного обстеження хворих.

Зважаючи на основну локалізацію патологічного процесу у хворих дослідної групи в тканинах ока, для доведення етіологічної

ролі різних вірусів родини герпесу в розвитку захворювання, необхідно було верифікувати активну герпесвірусну інфекцію та дослідити активність репродукції герпесвірусів на слизовій оболонці очей. Для вирішення цього завдання було проведено ПЛР дослідження вірусного навантаження вірусів родини герпесу в слізній рідині хворих дослідної групи (n=60) та пацієнтів групи порівняння (n=20). При проведенні досліджень активна репродукція вірусів родини герпесу в слізній рідині хворих на офтальмогерпес спостерігалася у 60 обстежених дослідної групи (100 %), які відповідно мали поєднання клінічної картини офтальмогерпесу та різний ступінь вірусного навантаження в слізній рідині. Саме ці хворі склали дослідну групу для подальшого проведення досліджень.

В табл. 1 наведено частоту виявлення і середню активність різних герпетичних вірусів у слізній рідині хворих дослідної групи та групи порівняння.

Таблиця 1

Частота виявлення і середня активність герпетичних вірусів у слізній рідині обстежених пацієнтів

	EBV				HHV ₆			
	Частота		Середня активність (M±m)		Частота		Середня активність (M±m)	
	Абс	%	Кратність	абс. к-сть	Абс	%	Кратність	абс. к-сть
ДГ	48	80	9,0±0,3	994,4±34,1	33	55	9,6±0,4	1051,6±41,8
ГП	15	75	9,1±0,5	998,8±52,8	12	60	9,9±0,4	1086,8±39,6
КГ	-	-	-	-	-	-	-	-

Згідно даних нашого дослідження серед всіх вірусів родини герпесу в слізній рідині обстежених пацієнтів дослідної групи найчастіше виявлявся Епштейна-Барр вірус - 48 хворих (80 %), на другому місці за частотою виявлення та активністю репродукції вірус герпесу 6-го типу - 33 хворих (55 %). За результатами досліджень ЕБВ моноінфекція була виявлена лише у 24 випадках (40 %), мікст-інфекція, при якій ЕБВ поєднувався з іншими герпесвірусами в такій самій кількості випадків - у 24 пацієнтів (40 %). Найчастіше було виявлено поєднання EBV з HHV6 (22 хворих, 36,7 %). Інші комбінації виявлялися набагато рідше. Так, активна реплікація EBV разом з реплікацією CMV спостерігалася тільки в 1 випадку (1,7 %), так само як і поєднанням реплікації EBV з HSV1 - лише в 1 випадку (1,7 %). Герпесві-

рус 6-го типу в комбінації з CMV нами було виявлено у одного обстеженого дослідної групи (1,7 %), також в одного хворого на офтальмогерпес спостерігалася одночасна реплікація герпесвірусу 1-го типу та CMV (1,7 %). Одночасної репродукції трьох та чотирьох вірусних агентів в слізній рідині хворих на офтальмогерпес не було виявлено в жодному випадку.

В слізній рідині хворих на офтальмогерпес на другому місці за частотою виявлення була інфекція, спричинена вірусом герпесу 6-го типу. При цьому моноінфекція HHV6 зустрічалася лише у 10 пацієнтів, що складає 16,7 % всіх хворих дослідної групи. Загалом HHV6, враховуючи зазначені вище комбінації з EBV, був виявлений у 33 хворих на офтальмогерпес (55 %), однак найбільше значення мала не моноінфекція HHV6, а саме комбінації цього вірусу з Епштейна-Барр вірусом, що зустрічалися у 22 обстежених (36,7 %). Ще рідше у слізній рідині хворих на офтальмогерпес було знайдено інфекцію, спричинену вірусом герпесу 1 типу, а саме у 2-х обстежених (3,3 %), та цитомегаловірусом - у 3-х пацієнтів (5 %). При цьому в жодному випадку ці віруси не визначалися у вигляді моноінфекції у обстежених нами хворих на офтальмогерпес. Активну репродукцію HSV1 було виявлено лише у складі зазначених вище комбінацій (відповідно рівні активності 6,3; 5,8). Те ж саме стосується і виявлення активної інфекції, спричиненої CMV. Як і у випадку герпесвірусу 1-го типу, CMV був виявлений у трьох хворих, що склало 5 % обстежених, і щоразу лише у поєднанні з іншими вірусами родини герпесу. Вірусне навантаження CMV при цьому було на рівні відповідно 4,2; 7,3; 6,7. В жодному випадку не була верифікована активна інфекція, спричинена вірусом герпесу 8 типу та вірусом Варіцелла Зостер.

Питома вага різних герпесвірусних інфекцій у слізній рідині хворих дослідної групи представлена на рис. 1.

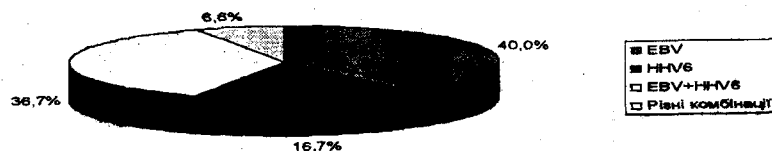


Рис. 1. Питома вага різних герпесвірусних інфекцій у слізній рідині хворих на ЗСО (n = 60).

Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології

Оскільки для проведення наших досліджень було обрано і використано кількісний метод ПЛР, у нас була можливість оцінити вираженість репродукції вірусів родини герпесу в обраній біологічній рідині. В ході наших подальших досліджень було виявлено, що кратності перевищення рівня позитивного контролю в слізній рідині хворих дослідної групи щодо Епштейна-Барр вірусу коливалися від 2,41 до 12,5 (n=48). Середній рівень ДНК EBV ($M \pm m$) склав $9,04 \pm 0,31$ ($\sigma=2,09$). Відповідно вираженість репродукції ДНК HHV6 коливалася в межах від 3,49 до 13,4 (n=33), середній рівень склав $9,56 \pm 0,38$ ($\sigma=2,18$). При цьому було виявлено, що вірогідної різниці між середніми рівнями ДНК EBV і HHV6 у пацієнтів дослідної групи не спостерігалася ($t=1,06$, $p>0,05$). Виходячи з усього вищевказаного можна стверджувати, що Епштейна-Барр вірус в слині хворих дослідної групи виявлявся у такій само кількості, як і вірус герпесу 6 типу (рис. 2).



Рис. 2. Середня активність EBV і HHV6 у слізній рідині хворих дослідної групи (n = 60).

Такі ж закономірності було виявлено при обстеженні хворих групи порівняння. На першому місці за частотою виявлення перебуває ЕБВ - 15 обстежених (75 %) і зустрічається на 4 % частіше, ніж у хворих дослідної групи. Це може бути свідченням певного імуносупресивного впливу традиційної схеми терапії офтальмогерпесу. На другому місці знаходиться інфекція, викликана герпесвірусом 6-го типу - 12 обстежених (60 %). При цьому моноінфекцію ЕБВ нами було виявлено в 6-и випадках (30 %), моноінфекцію HHV6 - в 4-ох випадках (20 %), поєднання активної репродукції EBV та HHV6 спостері-

Екологічна і клінічна імунологія та імунореабілітація

галосся у 7-и хворих групи порівняння (35 %). Відносно дослідної групи в групі порівняння більшою була частота виявлення активної репродукції герпесвірусу 1-го типу та ЦМВ - по 3 випадки відповідно (15 %). Але, так само, як і у хворих дослідної групи, моноінфекції, викликані цими збудниками зустрічалися надзвичайно рідко. Так моноінфекцію герпес вірусу 1-го типу було виявлено лише в 1-му випадку (5 %), а викликану ЦМВ - жодного разу. Натомість у обстежених пацієнтів групи порівняння було виявлено комбінації активної репродукції наступних вірусів родини герпесу: HSV1+CMV - 1 випадок (5 %), HSV1+CMV+EBV - 1 випадок (5 %), так само CMV+EBV+HHV6 - 1 випадок (5 %). Вірусне навантаження герпесвірусом 1-го типу в групі порівняння складала 5,65; 3,81 та 7,3, а цитомегаловірусом відповідно 8,2; 5,4 та 6,9. Поєднання чотирьох збудників не було визначено жодного разу.

Загальновідомим є те, що первинне інфікування вірусами родини герпесу відбувається повітряно-крапельним шляхом [1]. Це дозволило нам вважати виявлення активної реплікації вірусних ДНК в слині доказом того, що основний осередок герпесвірусної інфекції знаходився в її вхідних воротах - на слизових оболонках ротової і носової порожнин. Згідно з даними деяких літературних джерел (Мірошникова М.І.) ще одним джерелом інфекції при тривалій персистенції вірусів родини герпесу можна вважати регіонарну лімфоїдну тканину верхніх дихальних шляхів (аденоїди, мигдалики, регіонарні лімфатичні вузли). Згідно з даними сучасних літературних джерел, сам факт виявлення ДНК герпесвірусів в слині не є достатньою підставою для постановки діагнозу, оскільки можлива їх безсимптомна персистенція, за якої при клінічному обстеженні симптоматики та органічних уражень не спостерігається [1]. Однак в нашому випадку ми не можемо говорити про безсимптомну персистенцію вірусів родини герпесу у пацієнтів дослідної групи, оскільки при зборі анамнезу та клінічному обстеженні було виявлено різні хронічні клінічні форми органічного ураження слизової оболонки очей та ВДШ (хронічна лімфаденопатія, хронічний фарингіт, тонзиліт тощо). Зважаючи на це ми вважали за доцільне визнавати виділені з осередків інфекції герпетичні віруси їх етіологічними чинниками. Окрім того, для доведення етіологічної ролі певних

вірусів родини герпесу у хворих на офтальмогерпес проводилося визначення активності їх реплікації не лише в слині, а й на місці локалізації патологічного процесу - у слізній рідині.

В табл. 2 наведено частоту виявлення і середню активність різних герпетичних вірусів у слині хворих дослідної групи та хворих групи порівняння.

Таблиця 2

Частота виявлення і середня активність герпетичних вірусів у слині обстежених хворих

	EBV				HHV ₆			
	Частота		Середня активність (M±m)		Частота		Середня активність (M±m)	
ДІ	Абс	%	Кратність	абс к-сть	Абс	%	Кратність	абс. к-сть
ДІ	48	80	9,7 ± 0,3	1062,6 ± 27,5	36	60	7,6 ± 0,4	840,4 ± 41,8
ПІ	17	28	9,1 ± 0,5	1003,2 ± 83,2	12	60	6,9 ± 0,4	766,7 ± 85,4
КІ	5	25	3,7 ± 0,2	404,8 ± 18,7	8	40	3,1 ± 0,1	338,8 ± 12,1

З наведеної табл. 2 видно, що частота та активність репродукції вірусів родини герпесу в дослідній групі та в групі порівняння була майже однаковою, що свідчить про неефективність дії отримуваної терапії на пригнічення реплікації герпесвірусів при застосуванні стандартної схеми терапії офтальмогерпесу із призначенням препаратів групи ацикловіру та препаратів місцевих глюкокортикостероїдів. Навпаки, частота репродукції Епштейна-Барр вірусу після застосування стандартної схеми була на 5 % вище, ніж у хворих дослідної групи, частота репродукції герпесвірусу 6-го типу була однаковою в обох групах, що опосередковано може свідчити про негативний місцевий імуносупресивний ефект при місцевому застосуванні препаратів ГКС. Вірогідної різниці в середній активності репродукції EBV та HHV6 у хворих дослідної групи та групи порівняння знайдено не було (відповідно кратність репродукції $t=0,74$ та $t=0,89$, абсолютна кількість $t=0,47$ та $t=0,48$).

Як видно з табл. 2, серед всіх вірусів родини герпесу у обстежених пацієнтів дослідної групи найчастіше виявлявся Епштейна-Барр вірус - 48 хворих (80 %), на другому місці за частотою виявлення та активністю репродукції вірус герпесу 6-го типу - 36 хворих (60 %). За результатами досліджень EBV моноінфекція була виявлена лише у 16 випадках (26,7 %), а мікст-інфекція, при якій EBV поєднувався з іншими герпесвірусами, в два рази частіше - у 32 пацієнтів (53,3 %).

Найчастіше було виявлено поєднання EBV з HHV6 (22 хворих, 36,7 %), з них в двох випадках було виявлено комбінацію EBV-HHV6- HSV1. Інші комбінації виявлялися набагато рідше. Так, активна реплікація EBV разом з реплікацією CMV спостерігалася тільки в 4 випадках (6,7 %), а поєднання реплікації EBV з HSV1 - лише в 2-х випадках (3,3 %). Ще рідше нами було виявлено комбінацію EBV з іншими двома вірусами родини герпесу. Так, зустрічалися комбінації EBV-CMV-HSV1 у двох випадках, комбінація EBV- HHV6- HSV1 також в 2-х випадках (3,3 %). Комбінації чотирьох вірусних агентів не було виявлено в жодному випадку.

На рис. 3 графічно зображено питому вагу Епштейна-Барр вірусної інфекції у слині хворих на офтальмогерпес.

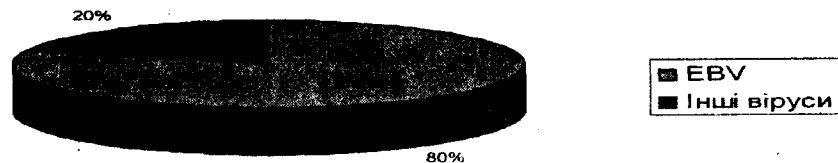


Рис.3. Питома вага активної EBV інфекції у хворих дослідної групи (n=60).

На другому місці за частотою виявлення була інфекція, спричинена вірусом герпесу 6-го типу. Моноінфекція HHV6 зустрічалася у 14 пацієнтів, що складає 23,3 % всіх хворих дослідної групи. Загалом HHV6, враховуючи зазначені вище комбінації з EBV, був виявлений у 36 хворих на офтальмогерпес (60 %), однак найбільше значення мала не моноінфекція HHV6, а саме комбінації цього вірусу з Епштейна-Барр вірусом.

Однаковою за частотою виявлення у хворих на офтальмогерпес була інфекція, спричинена вірусом герпесу 1 типу та цитомегаловірусом, кожна з яких спостерігалася у 6 хворих (10 %). При цьому в жодному випадку ці віруси не визначалися у вигляді моноінфекції у обстежених нами хворих на офтальмогерпес. Активну репродукцію HSV1 було виявлено лише у складі зазначених вище комбінацій (відповідно рівні активності 7,0; 1,2; 2,47; 5,4; 4,3; 1,9). Те ж саме стосується і виявлення активної інфекції, спричиненої CMV. Як і у випадку герпесвірусу 1-го типу, CMV був виявлений також у шести хворих, що склало 10% обстежених, і щоразу лише у поєднанні з іншими вірусами родини герпесу.

су. Вірусне навантаження CMV при цьому було на рівні відповідно 7,2; 9,8; 4,9; 2,44; 5,56; 7,1. В жодному випадку не була верифікована активна інфекція, спричинена вірусом герпесу 8 типу та вірусом Варіцелла Зостер.

Питома вага різних герпесвірусних інфекцій у слині обстежених пацієнтів дослідної групи представлена на рис. 4.

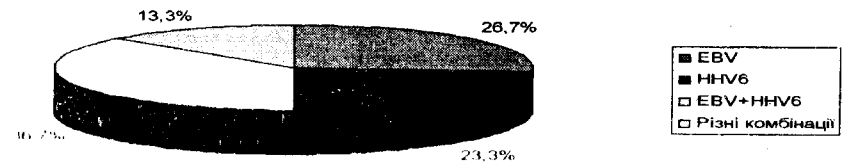


Рис. 4. Питома вага різних герпесвірусних інфекцій у слині хворих на ОО (n=60).

Оскільки для проведення наших досліджень було обрано і використано кількісний метод ПЛР, у нас була можливість оцінити вираженість репродукції цих вірусів родини герпесу в біологічній рідині. В ході наших досліджень було виявлено, що кратності перевищення рівня позитивного контролю щодо Епштейна-Барр вірусу коливалися від 4,92 до 14,7 (n=48). Середній рівень ДНК EBV ($M \pm m$) склав $9,66 \pm 0,25$ ($\sigma=1,75$). Відповідно вираженість репродукції ДНК HHV6 коливалася в межах від 3,33 до 12,3 (n=36), середній рівень склав $7,64 \pm 0,38$ ($\sigma=2,28$). При цьому було виявлено, що вірогідною була різниця між середніми рівнями ДНК EBV і HHV6 у слині пацієнтів дослідної групи ($t=2,43$, $p<0,01$). Виходячи з усього вищевказаного можна стверджувати, що Епштейна-Барр вірус в слині хворих дослідної групи виявлявся у вірогідно вищій кількості, ніж вірус герпесу 6 типу (рис. 5).

На думку багатьох дослідників (10; 12; 19), для верифікації наявності вірусів в організмі хворого та доведення етіологічної ролі вірусних агентів у розвитку патології різних органів необхідно досліджувати активність репродукції вірусів в сироватці крові хворих. Для перевірки цих відомостей ми вважали за доцільне провести ПЛР дослідження активності репродукції вірусів родини герпесу в сироватці крові пацієнтів дослідної групи. Дані проведених нами досліджень не співпадають з даними, викладеними у вказаних сучасних літературних джерелах.

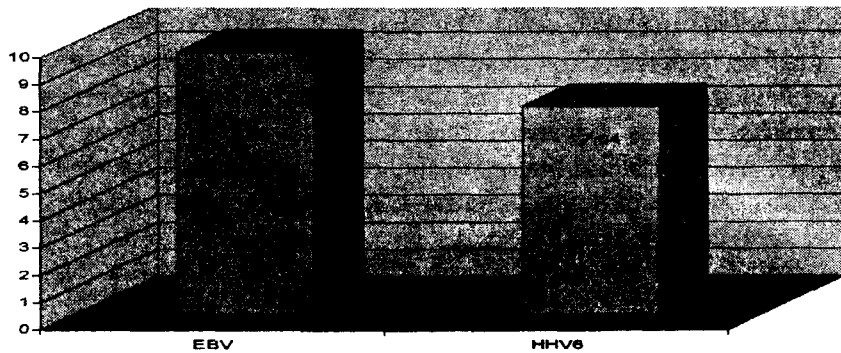


Рис.5. Середня активність EBV і HHV6 у слині хворих дослідної групи (n=60).

В табл. 3 подано частоту виявлення і середню активність різних герпетичних вірусів у сироватці крові хворих дослідної групи.

Таблиця 3

Частота виявлення і середня активність вірусів родини герпесу у сироватці крові хворих дослідної групи (n=60)

Вид вірусу	Частота		Середня активність ($\bar{X} \pm m$)	
	абс.	%	кратність	абс. к-сть
EBV	4	6,7	6,05 ± 1,19	665,50 ± 130,90
HHV ₆	3	5	4,43 ± 0,75	487,30 ± 82,50
HSV ₁	1	1,7	-	-
CMV	1	1,7	-	-
VVZ	-	-	-	-
HHV ₈	-	-	-	-

Відповідно до даних таблиці 3 активна репродукція Епштейна-Барр вірусу була виявлена в сироватці крові лише чотирьох пацієнтів дослідної групи, що складає 6,7% всіх обстежених (рівні активності 4,2; 7,8; 3,8; 8,4), активна репродукція герпесвірусу 6-го типу - в сироватці трьох хворих на офтальмогерпес (5%, рівні активності 5,8; 3,2; 4,3). Причому, на відміну від даних, отриманих при дослідженні слини та слізної рідини, моноінфекція EBV спостерігалась у 2-ох випадках з 4-ох, а моноінфекція HHV6 у 2-х випадках з 3-ох випадків (в одному випадку спостерігалась комбінація EBV+HHV6). Лише в одного хворого було виявлено одночасну активну реплікацію EBV, CMV та герпесвірусу першого типу (ступені активності відповідно 4,2; 3,8; 4,4), що супровод-

жувало виражену клінічну картину СХВ. Клінічні симптоми, які відповідають міжнародним критеріям синдрому хронічної втоми, спостерігалися у всіх хворих дослідної групи, у яких було виявлено активну репродукцію вірусів родини герпесу в сироватці крові. Окрім того, ці симптоми спостерігалися у пацієнтів протягом багатьох років, що свідчило про тривалий анамнез та тривалу безконтрольну персистенцію герпесвірусів в організмі обстежених. Подібні розлади, на нашу думку, можуть свідчити про генералізацію герпесвірусної інфекції у цих хворих і, як наслідок, появу активної репродукції не лише в місці проникнення вірусу та в місці основної локалізації патологічного процесу, а і в сироватці крові. Тобто наявність активної репродукції вірусів родини герпесу в сироватці крові ми розглядали як появу одного з ускладнень внаслідок тривалого неконтрольованого рецидивування офтальмогерпесу у хворих дослідної групи та внаслідок втрати імунологічного контролю над персистенцією вірусних агентів.

Після проведення обстеження пацієнтів дослідної групи нами було виявлено ряд показників, як клінічних, так і лабораторних, які дозволили нам розробити і застосувати імунотропну терапію хворих на офтальмогерпес. В першу чергу призначення імунотерапії ґрунтувалося на виявленні активної реплікації герпесвірусної інфекції, верифікованої методом кількісної ПЛР в слині та слізній рідині, яка і була етіологічним чинником наявних клінічних форм ураження очей у хворих на офтальмогерпес. Клінічні ознаки проявлялися наявністю запальних захворювань очей, що характеризувалися тривалим анамнезом, частими і затяжними рецидивами, частим розвитком важких інвалідизуючих ускладнень, тривалим субфебрилітетом в період ремісії, недостатньою ефективністю традиційної терапії, що також зумовлювало необхідність пошуку нових методів лікування в період рецидиву та профілактики загострень з використанням імунотерапії.

Зважаючи на виявлені в ході дослідження вірусологічні та імунологічні дані нами було розроблено і використано наступну схему імунотерапії активних форм герпесвірусної інфекції:

1. В перший день вводили внутрішньом'язово донорський імуноглобулін з підвищеним титром специфічних антитіл в розрахованій дозі (9,0-12,0 мл) одноразово.

2. З наступного дня починали курс терапії лаферобіоном в дозі 1 млн ОД внутрішньом'язово з інтервалом 48 годин. Сумарна курсова доза складала 10 млн ОД лаферобіону.

3. Після закінчення курсу лаферобіотерапії через 1 тиждень починали вводити Імунофан по 1,0 мл 0,005 % розчину внутрішньом'язово 1 раз на добу, з інтервалом через добу. На курс лікування 10 ін'єкцій.

4. З першого дня терапії призначали дезінтоксикаційну терапію, яка включала лактулозу (дуфалак) в дозі 20 мл один раз на добу.

Із 70 первинно обстежених пацієнтів з запальними захворюваннями очей запропоновану імунотропну терапію за розробленою нами схемою отримали 60 хворих, оскільки 10 обстежених ми були змушені виключити з дослідної групи при аналізі даних внаслідок того, що вони не проходили обстеження в динаміці спостереження, серед них 5 пацієнтів з індивідуальними відхиленнями у імунному статусі, у зв'язку з якими не можна було застосувати імунотропні препарати за запропонованою схемою. Окрім того ще 5 пацієнтів вибули з дослідження в процесі лікування в зв'язку з суб'єктивними чинниками.

Оскільки основним місцем локалізації патологічного процесу у хворих дослідної групи була слизова оболонка очей, то необхідно було проконтролювати динаміку зміни активності репродукції герпесвірусів у слізній рідині пацієнтів під впливом імунотропної терапії. Результати цього дослідження представлено в табл. 4.

За результатами нашого дослідження використання запропонованої схеми імунотерапії було абсолютно ефективним щодо HSV1 інфекції та майже 100 % ефективним стосовно EBV інфекції. Моноінфекції, викликані ЕБВ не спостерігалася в жодному випадку, моноННВ6 інфекція визначена у 7-и пацієнтів, які приймали участь у дослідженні (11,7 % усіх обстежених). За даними дослідження залишкову репродукцію ННВ6 в слізній рідині хворих дослідної групи було виявлено вдвічі частіше, ніж репродукцію EBV, але майже в три рази рідше, ніж до застосування етіотропної терапії. Водночас нами було відмічено, що ступінь репродукції обох визначених вірусів в слізній рідині після імунотерапії був навіть меншим, ніж в слині обстежених хворих на офтальмогерпес. Пацієн-

ти, в слізній рідині яких спостерігалася репродукція герпесвірусів після застосування імунотерапії початково мали мікст-інфекцію зумовлену EBV та ННВ6 і, на нашу думку, саме цей факт зумовлював певний ступінь резистентності вірусів родини герпесу до використаної імунотерапії. Активну репродукцію вірусів родини герпесу в слізній рідині після використання імунотропного лікування мали ті самі пацієнти, які мали залишкову репродукцію тих самих вірусів в слині. Це дозволяє ще раз підтвердити наявність так званого феномену солідарності слизових оболонок [4, 6]. Згідно цієї теорії активність реплікації вірусів родини герпесу на всіх ділянках слизової оболонки має бути відповідною за рівнем показників.

Таблиця 4

Частота виявлення і середня активність реплікації вірусів родини герпесу в слізній рідині хворих на ЗЗО до і після лікування (n=60 та n=20)

	EBV				ННВ ₆			
	Частота		Середня активність (M ± m)		Частота		Середня активність (M ± m)	
	Абс	%	Кратність	абс. к-сть	Абс	%	Кратність	абс. к-сть
ДГ1	48	80	9,0±0,3	994,4±34,1	33	55	9,6±0,4	1051,6±41,8
ДГ2	6	10	3,6±0,1*	393,8±14,3*	13	22	3,2±0,1*	353,1±13,2*
ГП1	15	75	9,1±0,5	998,8±52,8	12	60	9,9±0,4	1086,8±39,6
ГП2	11	55	7,7±0,4	847,0±38,5	33	55	7,9±0,4	869,0±47,3
КГ	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітки: в табл. 4-5 ДГ 1 - дослідна група до застосування імунотропної терапії; ДГ 2 - дослідна група після застосування імунотропної терапії; ГП 1 - група порівняння до застосування терапії; ГП 2 - група порівняння після застосування терапії; * - виявлено вірогідну різницю з показником до лікування (p<0,05).

Саме тому ми вважали за доцільне визначити кореляційний зв'язок між рівнем реплікації герпесвірусів у слині та слізній рідині пацієнтів дослідної групи після імунотерапії. Коефіцієнт кореляції склав 0,53, що свідчить про високий ступінь подібності показників на різних ділянках слизової оболонки. Це може дозволити в подальшому враховувати як вірогідні результати дослідження активності реплікації герпетичних вірусів в слині хворих з локалізацією захворювання на інших ділянках слизової оболонки для доведення вірусної природи патологічного процесу.

Згідно даних табл. 4, у хворих групи порівняння, які отримували лікування за традиційною схемою, частота виявлення

та активність реплікації вірусів родини герпесу були вірогідно вищими, ніж у хворих дослідної групи після застосування лікування за запропонованою в роботі схемою. Також в ході дослідження було виявлено вірогідну різницю в ступені активності репродукції EBV та HHV6 в слизній рідині пацієнтів дослідної групи до і після імунотерапії.

В ході подальшого проведення досліджень ми вважали за необхідне проаналізувати динаміку зміни активності репродукції вірусів родини герпесу в слині хворих дослідної групи під впливом використаної в нашій роботі схеми імунотерапії офтальмогерпесу. Отримані дані представлено в табл. 5.

Таблиця 5

Частота виявлення і середня активність реплікації вірусів родини герпесу у слині хворих на ЗЗО до і після лікування (n = 60 та n = 20)

	EBV				HHV ₆			
	Частота		Середня активність (M±m)		Частота		Середня активність (M±m)	
	Абс.	%	Кратність	абс. к-сть	Абс.	%	Кратність	абс. к-сть
ДГ1	48	80	9,7 ± 0,3	1062,6 ± 27,5	36	60	7,6 ± 0,4	840,4 ± 41,8
ДГ2	14	23	3,9 ± 0,3*	427,9 ± 36,3*	18	30	4,2 ± 0,3*	465,3 ± 28,6*
ГП1	17	85	9,1 ± 0,5	1003,2 ± 83,2	12	60	6,9 ± 0,4	766,7 ± 85,4
ГП2	15	75	8,3 ± 0,3	907,5 ± 28,6	14	70	7,3 ± 0,4	803,0 ± 44,0
КГ	5	25	3,7 ± 0,2	404,8 ± 18,7	8	40	3,1 ± 0,1	338,8 ± 12,1

За даними кількісної ПЛР найбільшої ефективності щодо припинення репродукції герпесвірусів було досягнуто у випадку CMV та HSV1, активної інфекції, викликані цими вірусами не було виявлено в жодному з випадків.

Як видно з табл. 5, у хворих з високим ступенем репродукції EBV в слині до імунотерапії після застосування запропонованої схеми лікування спостерігалось припинення репродукції вірусу у 34 пацієнтів (70,8 %). У вигляді моноінфекції ЕБВ не було зафіксовано в жодному випадку, всі 14 пацієнтів, у яких зберігався невисокий рівень вірусного навантаження EBV у слині, мали мікст-інфекцію, зумовлену комбінованим ураженням EBV та HHV6. Після застосування імунотропної терапії спостерігалось вірогідне зменшення кількості вірусних частинок в слині хворих дослідної групи. Натомість у хворих групи порівняння, які отримували протирецидивне лікування

за традиційною схемою, вірогідної різниці між кількістю вірусних частинок в слині до і після терапії виявлено не було, рівень репродукції ЕБВ хоча і зменшився, але несуттєво. Припинення репродукції ЕБВ відбулося лише у 2 хворих на ЗЗО.

Що стосується реплікації HHV6, припинення репродукції вірусу мало місце у 18 хворих дослідної групи (50% від початкової кількості пацієнтів, які мали активну реплікацію HHV6 в слині до імунотерапії) і, як вже було зазначено раніше, лише в 4-ьох пацієнтів дослідної групи (6,67%) після застосування імунотерапії було виявлено моноінфекцію, зумовлену активною реплікацією герпесвірусу 6-го типу. Інші 14 хворих дослідної групи (23,3%) мали одночасну реплікацію EBV та HHV6 в слині після закінчення курсу лікування. HHV6 інфекція виявилась більш резистентною до імунотропної терапії, хоча, як і у випадку ЕБВ-інфекції, після застосування запропонованої схеми відбулося вірогідне зменшення реплікації HHV6 в слині хворих дослідної групи. В той же час, у хворих групи порівняння спостерігалось хоча і не значне, але збільшення кількості вірусних частинок в слині після лікування. Активну репродукцію HHV6 було виявлено у 14 хворих, що на 2 випадки більше, ніж до прийому препаратів традиційної схеми. Отримані дані можуть бути ще одним свідченням невисокої ефективності препаратів групи ацикловіру в пригніченні реплікації ГВ 6 типу.

Дослідивши динаміку зміни активності реплікації вірусів родини герпесу в слині хворих дослідної групи під впливом застосованої схеми імунотерапії, маємо можливість зробити висновок про високий ступінь ефективності використаного лікування в пригніченні репродукції герпесвірусів і, відповідно, профілактиці рецидивів офтальмогерпесу.

Активної репродукції вірусів родини герпесу в крові хворих дослідної групи після використання імунотерапії не було виявлено в жодному випадку, що може бути ще одним свідченням достатньої ефективності використаної схеми імунотропного лікування для пригнічення репродукції вірусного ДНК.

Висновки

Таким чином, проаналізувавши дані проведених нами вірусологічних досліджень, ми прийшли до висновку, що провідну

роль у розвитку ЗЗО герпесвірусної етіології і підтриманні частих рецидивів захворювання мають Епштейна-Барр вірус і герпесвірус 6-го типу. При цьому саме ці віруси відзначалися вірогідно частіше і у вірогідно вищій кількості, ніж інші вірусні агенти і в слині, і в слізній рідині хворих на офтальмогерпес. На перше місце за частотою виявлення та активністю репродукції серед вірусів родини герпесу у пацієнтів дослідної групи вийшов Епштейна-Барр вірус. До того ж переважання активності EBV було характерним не тільки для дослідної групи в цілому, але й для хворих з мікст-формами герпетичної інфекції. Відповідно до отриманих в ході наших досліджень даних, ми вважаємо за доцільне говорити про активну участь EBV та HHV6 в етіології і патогенезі офтальмогерпесу у хворих дослідної групи, що не співпадає з даними літературних джерел [5, 7, 14, 15, 16, 18, 20, 21], в яких провідна роль у розвитку запальних захворювань очей надається вірусу простого герпесу та цитомегаловірусу. В наших дослідженнях ці віруси не мали суттєвої ролі в розвитку патології очей у хворих дослідної групи та групи порівняння, що дало нам змогу розробляти схему імунотерапії офтальмогерпесу з урахуванням етіологічної ролі вірусів родини герпесу, які виявляли найбільшу активність реплікації в досліджуваних середовищах.

На нашу думку, саме складність механізму імунної відповіді на два вірусних агенти і зумовила не стовідсоткову ефективність запропонованої схеми імунотерапії офтальмогерпесу. До того ж, при проведенні більш докладного аналізу отриманих результатів, було помічено, що активна репродукція EBV та HHV6 як в слині, так і в слізній рідині пацієнтів дослідної групи після застосування зазначеної схеми імунотерапії спостерігалася у тих хворих, у яких до проведення лікування було виявлено активну репродукцію вірусів родини герпесу в крові. Як вже було відмічено раніше, це були хворі на офтальмогерпес, які з тих чи інших причин мали стан вираженої імуносупресії, що також могло стати причиною певної резистентності герпесвірусів до використаних в дослідженні імунотропних препаратів.

Отже проведене імунотропне лікування було ефективним щодо пригнічення репродукції вірусів родини герпесу як в слині,

так і в слізній рідині хворих дослідної групи. Результати, отримані при дослідженні цих двох біологічних рідин, були абсолютно співставимі між собою. Це може бути пояснено поняттям феномену імунної солідарності слизових оболонок.

Хворі з недостатнім ефектом імунотропної терапії щодо усунення вірусного навантаження мали переважно мікст-інфекцію EBV з HHV6, що, на нашу думку, могло пояснити збереження репродукції вірусів родини герпесу у певної частини пацієнтів.

Натомість у хворих групи порівняння, які не отримували зазначеної імунотропної терапії, протягом всього дослідження спостерігалися вірогідно більш висока частота виявлення та вірогідно більш високий ступінь репродукції вірусів родини герпесу і в слині, і в слізній рідині.

Література

1. Богадельников И.В. Герпесвирусы в организме человека: наказание или благо? / И.В.Богадельников // *Новости медицины и фармации*. - 2007. - № 1. - С.12-15.
2. Вирусы семейства герпеса и иммунитет / Ф.С. Харламова, Н.Ю.Егорова [и соавт.] // *Детские инфекции*. - 2006. - № 3. - С. 3-10.
3. Дрожжина Г.И. Вирусные заболевания роговицы и конъюнктивы / Г.И.Дрожжина // *Здоров'я України*. - 2002. - № 5. - С. 15-19.
4. Казмірчук В.Є. Клінічна імунологія та алергологія / В.Є.Казмірчук, Л.В.Ковальчук. - Вінниця: Нова книга, 2006. - 526 с.
5. Каспаров А.А. Офтальмогерпес / А.А.Каспаров. - М.: Медицина, 1994. 224 с.
6. Клінічна імунологія та алергологія : підручник / [Г.М.Драннік, О.С.Прилуцький, Ю.І.Бажора та ін.; за ред. проф. Г.М.Дранніка]. - Київ: Здоров'я, 2006. - 888 с.
7. Кричевская Г.И. Распространенность и клиническое значение активной цитомегаловирусной инфекции у больных с офтальмопатологией воспалительного характера / Г.И.Кричевская, В.О.Андженов, А.Ю.Звонарев // *Вестн. офтальмол.* - 2000. - № 5. - С.51-59.
8. Майчук Ю.Ф. Фармакотерапия воспалительных заболеваний глаз: вчера, сегодня, завтра / Ю.Ф. Майчук // *Актуальные вопросы воспалительных заболеваний глаз*. - 2001. - № 4. - С. 7.

9. Мальханов В.Б. Офтальмогерпес: клиника, диагностика, лечение / Мальханов В.Б.- Уфа: Филем, 1994. - 104 с.
10. Мальханов В.В. Лабораторная диагностика увеитов вирусной этиологии / В.В.Мальханов, М.А.Деребизова, Г.К.Мамбеткулова // Новые технологии в офтальмологии: сб. науч. трудов Уфим. НИИ глазн. болезней. - Уфа, 2000. - С.246-251.
11. Герпесвируси й ураження органів зору / І.Л.Маричев // Вестник неотложной и восстановительной медицины. - 2006. - Том 7, №1. - С. 47-50.
12. Марков И.С. Лабораторная диагностика Эпштейн-Барр вирусной инфекции / И.С.Марков // Здоровье женщины. - 2002. - № 1(9). - С.101-109.
13. Меморандум совещания ВОЗ // Бюллетень ВОЗ. - 1991. - Т.69, № 3. - С.11-19.
14. Biswas S. Graft failure in human donor corneas due to transmission of herpes simplex virus / S.Biswas, P.Suresh, G.Corbitt // Brit. J. Ophthalmol. - 2000. - № 7. - P.701-705.
15. Cook S.D. Herpes simplex virus in the eye / S.D.Cook // Br. J. Ophthalmol. - 1992. - V. 76. - P. 365-366.
16. Foster S. HSV keratitis / S. Foster. - Massachusetts Eye & Ear Infirmary Immunology Service, 1997. - 98 p.
17. Human herpesviruses in the cornea / [Haye Stepher B., Baker Kevin, Bonshek Richard et all.] // Brit. J. Ophthalmol. - 2000. - Vol.84. - P.563-571.
18. Kaye S.B. Herpes simplex keratitis / S.B.Kaye, K.Baker // J. Med. Microbiol. - 1996. - № 1. - P.3-5.
19. Polymerase chain reaction of aqueous humor samples in necrotizing retinitis / [Tran T.H., Rozenberg F., Cassoux N. et al.] // Brit. J. Ophthalmol. - 2003. - Vol.1. - P.79-83.
20. Stalder N. Cytomegalovirus-retinitis: Decreased risk of bilaterality with increased use of systemic treatment / N. Stalder, M. Olmari, V.Gabriel // Clin. Infect. Diseases. - 1997. - № 4. - P. 620-624.
21. Virological, clinical and ophthalmologic features of cytomegalovirus retinitis after hematopoietic stem cell transplantation / [Grippa Fulvio, Corey Lawrence, Chuang Elaine L. et al.] // Clin. Infect. Diseases. - 2001. - Vol. 32. - P. 214-219.

Резюме

Удовенко Н.С., Казмірчук В.Є. Верифікація активних форм герпесвірусної інфекції у пацієнтів з запальними захворюваннями очей при застосуванні імунотропної терапії.

В статті викладено дані власних спостережень щодо активності репродукції вірусів родини герпесу в слізній рідині, слині та крові хворих з часто рецидивуючими формами запальних захворювань очей до та після застосування наведеної в роботі схеми імунотерапії.

Ключові слова: запальні захворювання очей, офтальмогерпес, віруси родини герпесу, герпесвірус 1/2 типу, вірус Варіцелла Зостер, Епштейна-Барр вірус, цитомегаловірус, герпесвірус 6-го типу, герпесвірус 8-го типу, рецидивуючі форми ураження очей, протирецидивна терапія, специфічний імуноглобулін, лаферобіон, імунофан.

Резюме

Удовенко Н.С., Казмірчук В.Є. Верифікація активних форм герпесвірусної інфекції у пацієнтів з воспалительними захворюваннями очей при застосуванні імунотропної терапії.

В статті изложено данные собственных наблюдений относительно активности репродукции вирусов семейства герпеса в слезной жидкости, слюне и крови больных с часто рецидивирующими формами воспалительных заболеваний глаз до и после применения приведенной в работе схемы иммунотерапии.

Ключевые слова: воспалительные заболевания глаз, офтальмогерпес, вирусы семейства герпеса, герпесвирус 1/2 типа, вирус Варицелла Зостер, Эпштейна-Барр вирус, цитомегаловирус, герпесвирус 6-го типа, герпесвирус 8-го типа, рецидивирующие формы поражения глаз, противорецидивная терапия, специфический иммуноглобулин, лаферобіон, имунофан.

Summary

Udoenko N.S., Kazmirchuk V.E. The herpes virus infection active form verification for the patients with the eyes inflammable diseases under the administration of the immunotherapy.

This article contains the data of the personal monitoring of the herpes family viruses reproduction in the lachrymal liquid, saliva and blood of the patients with the recurrent forms of the eyes inflammable diseases before and after the immunotherapy regimen mentioned in the paper.

Key words: eyes inflammable diseases, ophthalmoherpes, herpes family viruses, 1/2-type herpesvirus, Varicella-Zoster virus, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, 6-type virus, 8-type virus, eyes-affection recurrent form, anti-recurrent therapy, specific immunoglobulin, laferobion, imunofan.

Рецензент: д.мед.н., проф. А.М.Петруня