

Диагностика бетагерпетических кератитов на основании данных прижизненной конфокальной микроскопии

А.А. Тарханова ✉, Д.Ю. Майчук, Е.Е. Зинич, М.Р. Таевере

Микрохирургия глаза имени академика С.Н. Фёдорова, Москва, Россия

Аннотация. Проанализированы результаты прижизненной морфологической и лабораторной диагностики поверхностных бетагерпетических кератитов 26 человек (26 глаз), что выявило при проведении иммуноферментного анализа (ИФА) крови у 11,5 % исследуемых повышение иммуноглобулинов М (IgM) к цитомегаловирусу (ЦМВ) или герпесвирусу человека 6-го типа (ВГЧ-6), у 69,2 % пациентов группы – иммуноглобулины G (IgG), превышающие референсные значения, как к ЦМВ, так и к ВГЧ-6, 30,8 % исследуемых имели превышающие норму значения IgG изолированно только к ЦМВ или ВГЧ-6. При полимеразной цепной реакции (ПЦР) слезы и слюны у пациентов группы в 15,4 % случаев была выявлена ДНК цитомегаловируса, в 53,8 % – ДНК ВГЧ-6. При конфокальной микроскопии специфические патогномоничные для бетагерпесвирусов клетки по типу «совиного глаза» были обнаружены у 86,7 % пациентов группы.

Ключевые слова: кератит, ЦМВ, ВГЧ-6, конфокальная микроскопия, бетагерпесвирусы, герпес, клетка «совиный глаз»

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

doi: <https://doi.org/10.19163/1994-9480-2024-21-1-68-71>

Diagnostics of betaherpesvirus keratitis based on data of intravital confocal microscopy

A.A. Tarkhanova ✉, D.Y. Maychuk, E.E. Zinych, M.R. Taevere

Eye Microsurgery named after Academician S.N. Fedorov, Moscow, Russia

Abstract. The results of intravital morphological and laboratory diagnostics of superficial betaherpesvirus keratitis of 26 people (26 eyes) were analyzed. As a result of ELISA, an increase of Immunoglobulin M (IgM) to CMV or HHV-6 was found in 11,5 % of patients. 69,2 % of patients had level of Immunoglobulin G (IgG) both to CMV and HHV-6 exceeding the reference values. 30,8 % had exceeding the norm level of Immunoglobulin G (IgG) only to CMV or HHV-6 separately. As a result of the performed PCR of a tear and saliva of patients of a surveillance group in 15,4 % of cases HCMV DNA was found; in 53,8 % cases – HHV-6 DNA was found. As a result of performed confocal microscopy specific pathognomonic to betaherpesvirus owl's eye cells was found in 86,7 % of surveillance group.

Keywords: keratitis, CMV, HHV-6, confocal microscopy, betaherpesviruses, herpes, "owl's eye" cells

Герпесвирусы – семейство ДНК-содержащих вирусов (более 200 видов), восемь из которых являются этиологическим фактором воспаления тканей глаза человека. Тема поражений роговицы герпесвирусами является актуальной по причине формирования в исходе заболевания помутнений, обуславливающих значительное снижение остроты зрения, а в некоторых случаях, разрешающихся потерей глазного яблока.

Традиционно принято считать, что основными причинами герпетических кератитов являются вирусы простого герпеса первого и второго типов, вирус ветряной оспы, которые вызывают классические клинические формы, такие как древовидный и картообразный кератит, дисковидный стромальный кератит, герпетический кератоувеит, герпетический эндотелиит [1, 2].

В настоящее время в литературе широко описаны также и поражения роговицы глаза человека цитомегаловирусом (ЦМВ) в виде эндотелиита и кератоувеита. Дискуссионным остается вопрос возможной роли герпесвируса человека 6-го типа (ВГЧ-6) в патогенезе кератитов. Описания в литературе кератитов с вовлечением переднего эпителия и верхних отделов стромы роговицы, подтвержденных лабораторными методами исследования, нами обнаружено не было.

Наш клинический опыт дает возможность сделать предположение о возможности возникновения поверхностных кератитов, ассоциированных с ЦМВ и ВГЧ-6, объединенных, согласно номенклатуре, в подсемейство бетагерпесвирусов [3, 4].

Важность определения в отдельную категорию поверхностных кератитов, ассоциированных с бетагерпесвирусами, складывается из характеристик

данного подсемейства, а также клинических особенностей течения заболевания. Для бетагерпесвирусов свойственными являются длительный репродуктивный жизненный цикл, медленная прогрессия в системах клеточных структур, низкая чувствительность к аналогу гуанозина – ацикловиру, применяемому в лечении традиционных форм герпетических кератитов, а основной характерной чертой является их способность образовывать увеличенные клетки, именуемые клетками по типу «совиного глаза». Клиническая картина такого кератита, согласно нашему опыту, характеризуется волнообразным течением, где каждый новый рецидив воспаления приводит к увеличению помутнения роговицы по площади и глубине. Необходимость уточнения этиологии и патогенеза указанной проблемы и определило цель настоящего исследования [5].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Представить результаты прижизненной морфологической и лабораторной диагностики поверхностных бетагерпетических кератитов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Группа исследования включала 26 человек (26 глаз). Критериями включения стали: 1) рецидивирующий односторонний кератит, с вовлечением переднего эпителия, Боуменовы мембраны и верхних отделов стромы роговицы, в анамнезе; 2) длительность заболевания более 1-го месяца; 3) возраст старше 18 лет. Критерии исключения: 1) бактериальное и/или грибковое поражение роговицы; 2) герпетический кератит, имеющий стандартный классический вариант клинического течения (поверхностный древовидный кератит, поверхностный картообразный кератит, стромальный дисквидный кератит, цитомегаловирусный эндотелиит); 3) возраст менее 18 лет.

Каждому пациенту группы было проведено стандартное офтальмологическое обследование, включающее исследование остроты зрения, внутриглазного давления, биомикроскопию с щелевой лампой. В качестве основного метода инструментальной диагностики проводилась конфокальная микроскопия с использованием лазерного сканирующего томографа Heidelberg Retinal Tomographer HRT-III с насадкой Rostok Cornea Module (Heidelberg Engineering, Германия). Лабораторная диагностика включала проведение иммуноферментного анализа (ИФА), полимеразной цепной реакции (ПЦР). ИФА крови выполнялся с целью определения титра вируснейтрализующих антител к шести типам герпесвирусов. При проведении ПЦР определялось наличие генома шести типов герпесвирусов в слезе и слюне.

Средний возраст пациентов составил 59 (± 7) лет. Срок наблюдения составил 12 месяцев.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного ИФА крови у 11,5 % исследуемых было выявлено повышение иммуноглобулинов М (IgM) к ЦМВ или ВГЧ-6. У 69,2 % пациентов группы были выявлены иммуноглобулины G (IgG), превышающие референсные значения, как к ЦМВ, так и к ВГЧ-6, 30,8 % исследуемых имели превышающие норму значения IgG изолированно только к ЦМВ или ВГЧ-6.

В результате проведенной ПЦР слезы и слюны у пациентов группы в 15,4 % случаев была выявлена ДНК цитомегаловируса, в 53,8 % – ДНК ВГЧ-6.

В результате проведения конфокальной микроскопии специфические патогномоничные для бетагерпесвирусов клетки по типу «совиного глаза» были обнаружены у 86,7 % пациентов группы (рис. 1, 2).

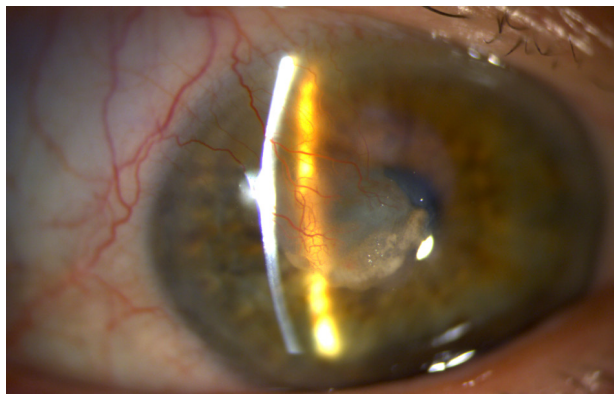


Рис. 1. Биомикроскопическая картина пациента с бетагерпетическим кератитом: субэпителиальный инфильтрат с нарушением эпителизации, активная неоваскуляризация; особенности инфильтрата – имеет четкие интенсивные границы, берет начало от лимба

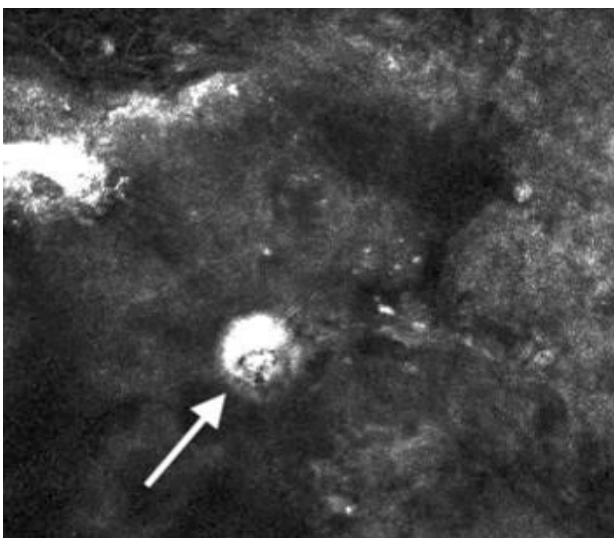


Рис. 2. Конфокальная микроскопия пациента с бетагерпетическим кератитом. Клетка по типу «совиного глаза» на глубине 30 мкм. 400 × 400 мкм

Согласно литературным данным, используемые в рутинной практике лабораторные методы диагностики герпетических поражений органа зрения не всегда достоверны и в ряде случаев могут давать ложноотрицательные результаты. Другой причиной невозможности выявления определенного этиологического фактора имеет сочетанное инфицирование несколькими типами герпесвирусов значительного процента популяции. Развитие метода прижизненной конфокальной микроскопии дает возможность идентификации типа герпетического возбудителя.

Возможность оптического разделения конфокальной микроскопии позволяет получить изображения роговицы на большом увеличении с разной глубиной и, таким образом, подходит для исследования *in vivo*. Ранее метод конфокальной микроскопии был применен Yokogawa с соавторами в исследовании группы пациентов с цитомегаловирусным эндотелиитом, доказанным методом ПЦР, где достоверно была выявлена связь ЦМВ инфицирования и обнаружения специфических клеток по типу «совиного глаза». Таким образом, ранее патогномичные клетки были обнаружены только в клетках заднего эпителия роговицы, а описания их обнаружения в переднем эпителии и верхних отделах стромы нами найдено не было [6, 7, 8].

Клетки по типу «совиного глаза» патоморфологически являются патогномичными для бета-герпесвирусов, и имеют в своей структуре тельца включения, содержащие размножающийся ДНК-вирус.

Прижизненная конфокальная микроскопия позволяет обнаружить специфичные клетки по типу «совиного глаза», характерные для ЦМВ и ВГЧ-6, и в совокупности со стандартными диагностическими тестами (ИФА, ПЦР), дает возможность установить диагноз кератита, ассоциированного с бетагерпесвирусами, что подтверждается проведенным исследованием [9].

Клинический опыт ведения пациентов группы с предполагаемыми бетагерпетическими поверхностными кератитами дает нам возможность полагать, что течение заболевания имеет ряд особенностей, требующих пересмотра стандартных схем ведения пациентов с указанной патологией, ввиду низкой чувствительности бетагерпесвирусов к ацикловиру, препарату, традиционно применяемому в лечении офтальмогерпеса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метод прижизненной конфокальной микроскопии позволил выявить у 86,7 % пациентов группы в переднем эпителии и верхних слоях стромы роговицы специфические для бетагерпесвирусов клетки по типу «совиного глаза». У каждого пациента с обнаруженными клетками наличие ЦМВ и ВГЧ-6 инфицирования подтверждалось методом лабора-

торной диагностики. Таким образом, проведенное исследование указывает на возможность возникновения поверхностных кератитов, ассоциированных с ЦМВ и ВГЧ-6.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Клинические рекомендации. Герпетические заболевания глаз. Общероссийская общественная организация «Ассоциация врачей офтальмологов», 2017.
2. Майчук Ю.Ф. Вирусные заболевания глаз. М.: Медицина, 1981 272 с.
3. Клещева Е.А., Кочергин С.А., Слонимский Ю.Б. Особенности диагностики и комплексный подход к терапии герпетических кератитов. *Офтальмология*. 2019;16(2):252–258. doi: 10.18008/1816-5095-2019-2-252-258.
4. La Distia N.R., Putera I., Mayasari Y.D. et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of cytomegalovirus anterior uveitis and endotheliitis: A systematic review and meta-analysis. *Survey of Ophthalmology*. 2022;(4):1014–1030. doi: 10.1016/j.survophthal.2021.12.006.
5. Fulkerson H.L., Nogalski M.T., Collins-McMillen D., Yurochko A.D. Overview of Human Cytomegalovirus Pathogenesis. *Methods in Molecular Biology*. 2021;2244:1–18. doi: 10.1007/978-1-0716-1111-1_1.
6. Shenk T.E., Stinski M.F. Human Cytomegalovirus. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2008;325:492. doi: 10.1007/978-3-540-77349-8_2.
7. Yokogawa H., Kobayashi A., Sugiyama K. Mapping owl's eye cells of patients with cytomegalovirus corneal endotheliitis using *in vivo* laser confocal microscopy. *Japanese Journal of Ophthalmology*. 2013;57(1):80–84. doi: 10.1007/s10384-012-0189-5.
8. Чернакова Г.М., Майчук Д.Ю., Малышева З.Г. Результаты иммуноферментного анализа сыворотки крови при инфекционно-воспалительных заболеваниях переднего сегмента глаза. *Вестник офтальмологии*. 2020;136(2):32–37. doi: 10.17116/oftalma202013602132.
9. Тарханова А.А., Таевере М.Р., Шпак А.А. и др. Способ диагностики эпителиального и стромального цитомегаловирусного кератита. Патент РФ на изобретение №2789984. 14.02.2023. Бюл. №5.

REFERENCES

1. Clinical Guidelines. Herpetic eye disease. All-Russian Public Organization «Association of Ophthalmologists», 2017. (In Russ.).
2. Maychuk F.Yu. Viral eye diseases. Moscow; Medicine Publ., 1981. 272 p. (In Russ.).
3. Kleshcheva E.A., Kochergin S.A., Slonimskiy Yu.B. Diagnostic features and complex approach to herpetic keratitis treatment. *Oftalmologiya = Ophthalmology*. 2019;16(2):252–258. (In Russ.) doi: 10.18008/1816-5095-2019-2-252-258
4. La Distia N.R., Putera I., Mayasari Y.D. et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of cytomegalovirus anterior uveitis and endotheliitis: A systematic review and

meta-analysis. *Survey of Ophthalmology*. 2022;(4):1014–1030. doi: 10.1016/j.survophthal.2021.12.006.

5. Fulkerson H.L., Nogalski M.T., Collins-McMillen D., Yurochko A.D. Overview of Human Cytomegalovirus Pathogenesis. *Methods in Molecular Biology*. 2021;2244:1–18. doi: 10.1007/978-1-0716-1111-1_1.

6. Shenk T.E., Stinski M.F. Human Cytomegalovirus. *Current Topics in Microbiology and Immunology*. 2008;325:492. doi: 10.1007/978-3-540-77349-8_2.

7. Yokogawa H., Kobayashi A., Sugiyama K. Mapping owl's eye cells of patients with cytomegalovirus corneal endotheliitis using

in vivo laser confocal microscopy. *Japanese Journal of Ophthalmology*. 2013;57(1):80–84. doi: 10.1007/s10384-012-0189-5.

8. Chernakova G.M., Maychuk D.Yu., Malysheva Z.G. Results of enzyme immunoassay of serum in infectious diseases of anterior eye segment. *Vestnik Oftalmologii = The Russian Annals of Ophthalmology*. 2020;136(2):32–37. (In Russ.) doi: 10.17116/oftalma202013602132.

9. Tarkhanova A.A., Taevere M.R., Shpak A.A. et al. Method of diagnosis of epithelial and stromal cytomegalovirus keratitis. Patent for invention No. 2789984. 14.02.2023. Bul. no. 5. (In Russ.).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Информация об авторах

Анастасия Андреевна Тарханова – врач-офтальмолог, Микрохирургия глаза имени академика С.Н. Фёдорова, Москва, Россия; ✉ anastasiyatarkhanova@icloud.com, <https://orcid.org/0000-0003-3717-4533>

Дмитрий Юрьевич Майчук – доктор медицинских наук, заведующий отделом терапевтической офтальмологии, Микрохирургия глаза имени академика С.Н. Фёдорова, Москва, Россия; maychuk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1674-4666>

Елена Евгеньевна Зинич – врач-ординатор, Микрохирургия глаза имени академика С.Н. Фёдорова, Москва, Россия; helen-zinych@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-8415-6924>

Мариям Рамазанована Таевере – кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник отдела клинико-функциональной диагностики, Микрохирургия глаза имени академика С.Н. Фёдорова, Москва, Россия; taeveremr@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1013-6924>

Статья поступила в редакцию 25.12.2023; одобрена после рецензирования 27.12.2023; принята к публикации 15.02.2024.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Information about the authors

Anastasia A. Tarkhanova – ophthalmologist, Eye Microsurgery named after Academician S.N. Fedorov, Moscow, Russia; ✉ anastasiyatarkhanova@icloud.com, <https://orcid.org/0000-0003-3717-4533>

Dmitry Yu. Maychuk – MD, Head of the Department of Therapeutic Ophthalmology, Eye Microsurgery named after Academician S.N. Fedorov, Moscow, Russia; maychuk@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1674-4666>

Elena E. Zinych – Resident Physician, Academician S.N. Fedorov Eye Microsurgery, Moscow, Russia; helen-zinych@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-8415-6924>

Mariam R. Taevere – Candidate of Medical Sciences, Junior Researcher at the Department of Clinical and Functional Diagnostics, Eye Microsurgery named after Academician S.N. Fedorov, Moscow, Russia; taeveremr@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-1013-6924>

The article was submitted 25.12.2023; approved after reviewing 27.12.2023; accepted for publication 15.02.2024.