doi: 10.17116/oftalma2016132131-35

Гликопротеины слезы и ротовой жидкости при офтальмогерпесе

С.Э. РЕУК, Н.А. ТЕРЁХИНА

ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Петропавловская ул., 26, Пермь, Российская Федерация, 614000

Цель — сравнить содержание белков острой фазы воспаления в слезе, ротовой жидкости и плазме крови больных с герпетическим кератитом и использовать полученные результаты для оценки эффективности лечения. **Материал и методы.** В слезе, ротовой жидкости и плазме крови 22 взрослых, 34 детей с офтальмогерпесом и 68 здоровых лиц определяли содержание белков острой фазы воспаления иммунотурбидиметрическими и спектрофотометрическими методами. **Результаты.** Высокое содержание С-реактивного белка, орозомукоида и низкое содержание церулоплазмина, α_1-антитрипсина, трансферрина в слезе при герпетическом кератите, отсутствие нормализации содержания белков в слезе, ротовой жидкости и плазме крови при выписке является прогностически неблагоприятным признаком, отражает интенсивность воспаления в роговице, свидетельствует о незавершенности процесса и необходимости продолжения лечения. Степень изменения концентрации белков острой фазы воспаления в слезе больных с герпетическим кератитом коррелирует с глубиной поражения роговицы, частотой рецидивов и динамикой развития заболевания. **Заключение.** Количественное определение содержания белков острой фазы воспаления в слезе и ротовой жидкости является ранним чувствительным индикатором воспаления, может применяться для неинвазивного мониторинга и контроля эффективности противовирусной терапии офтальмогерпеса. Исследование ротовой жидкости позволяет расширить возможности неинвазивной диагностики офтальмогерпеса.

Ключевые слова: *офтальмогерпес, слеза, ротовая жидкость, белки острой фазы воспаления.*

Lacrimal and salivatory glycoproteins in ophthalmic herpes

S.E. REUK, N.A. TEREKHINA

Perm State Medical University named after acad. E.A. Wagner, Ministry of Health of Russia, 26 Petropavlovskaya St., Perm, Russian Federation, 614000

Aim — to compare tear, saliva, and plasma levels of acute phase proteins (APPs) of inflammation in patients with herpes keratitis and to use the results in treatment evaluation. **Material and methods.** APPs were measured in tears, oral fluid, and blood plasma from 22 adults and 34 children with ophthalmic herpes as well as 68 healthy controls using immunoturbidimetric and spectrophotometric methods of detection. **Results.** High levels of C-reactive protein and orosomucoid, low levels of ceruloplasmin, α_1-antitrypsin, and transferrin in tears from patients with herpes keratitis as well as abnormal tear, saliva, and plasma APPs levels at discharge are poor prognostic signs. They all indicate that corneal inflammation is still intense and that the treatment should not be ceased yet. Severity of APPs concentration changes in tear from patients with herpes keratitis correlates with the depth of corneal lesions, recurrence rate, and disease dynamics. **Conclusion.** Quantitative determination of acute phase proteins in tear and oral fluid is an early and sensitive inflammation test and may be also used for non-invasive monitoring and antiviral treatment evaluation. Oral fluid allows to extend the capabilities of non-invasive diagnostics of ophthalmic herpes.

Keywords: *ophthalmic herpes, tear, oral fluid, acute phase proteins of inflammation.*

В последние годы наблюдается неуклонный рост числа заболеваний глаз, вызванных вирусом простого герпеса [1—3]. В России ежегодно регистрируется 300—500 тыс. случаев офтальмогерпеса. Рецидивы заболевания возникают в 25% случаев после первой атаки вируса простого герпеса и в 75% — после повторных [1—3]. Ферментативный анализ слезной жидкости предложен для прогнозирования рецидивов офтальмогерпеса [4, 5]. Неинвазивная диагностика заболеваний по анализу слезы, слюны приобретает особую актуальность, особенно в педиатрической практике, когда взятие крови для биохимического исследования затруднительно и небезопасно [2, 4, 6]. При герпетической инфекции изменяется белковый и минеральный состав слезы и ротовой жидкости (РЖ) [4—8].

© С.Э. Реук, Н.А. Терёхина, 2016

Для корреспонденции:
Реук Светлана Эльмировна — доцент каф. биологии
e-mail: svetlana.reuk@rambler.ru

Цель исследования — сравнить содержание белков острой фазы (БОФ) воспаления в слезе, РЖ и плазме крови больных с герпетическим кератитом и использовать полученные результаты для оценки эффективности лечения.

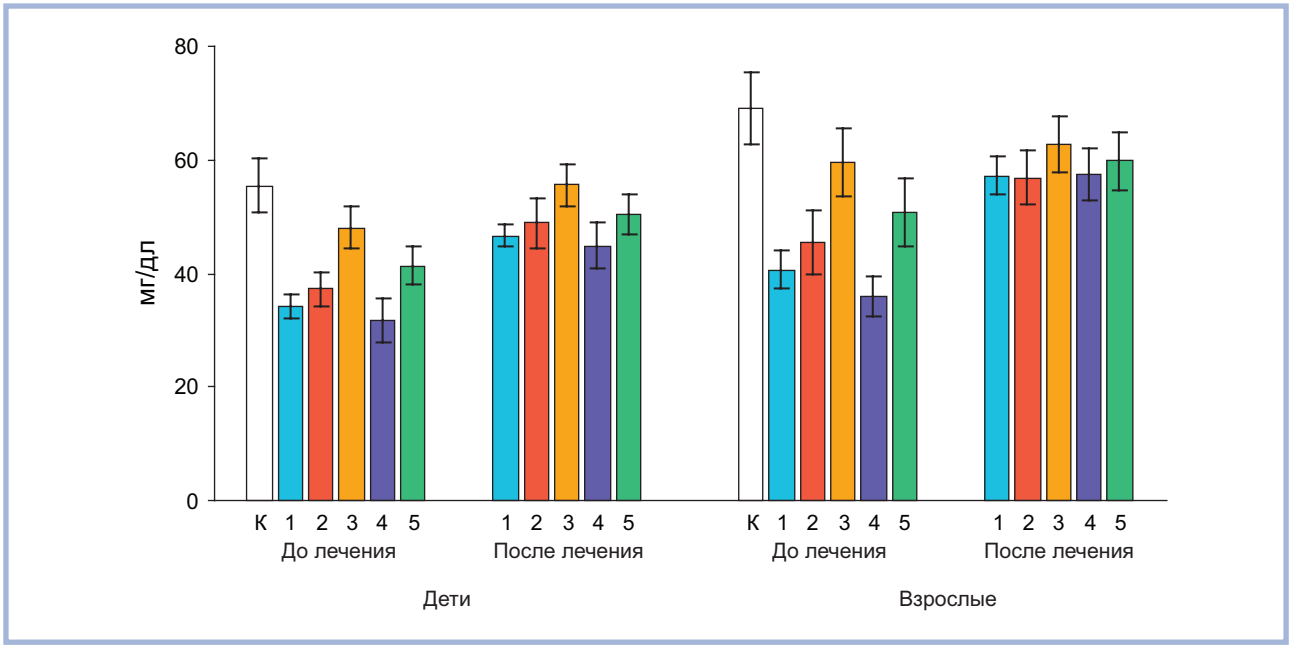
Материал и методы

При герпетическом кератите в слезе, РЖ, плазме крови 22 взрослых и 34 детей исследовали содержание 6 гликопротеинов (белков острой фазы воспаления): турбидиметрическим методом определяли содержание орозомукоида (кислого α_1-гликопротеина), α_1-антитрипсина (α_1-АТ), трансферрина, С-реактивного белка (СРБ) по [9], спектрофотометрически определяли содержание общего белка биуретовым методом по [10], церулоплазмина (ЦП) — по [11]. В качестве контроля служили слеза, РЖ и плазма крови 68 здоровых лиц. Слезу собирали по методу [12], РЖ — по методу [6].

Результаты и обсуждение

В плазме крови здоровых людей содержание белка более чем на порядок выше по сравнению с таковым в слезе и РЖ **(табл. 1, 2)**. В РЖ детей содержание общего белка в 1,5 раза выше, чем у взрослых (p<0,001). В слезе герпесинфицированного глаза уровень белка достоверно снижается в 1,5—2 раза как у детей, так и у взрослых. Белки в слезу в основном секретируют слезные железы, а их количество зависит от скорости слезотечения [5, 13]. Уменьшение концентрации общего белка в слезе при деструкции эпителия роговицы в период разгара заболевания связано с интенсификацией слезоотделения и истощением секреторных резервов слезной железы. После лечения офтальмогерпеса содержание общего белка в слезной жидкости нормализуется. Достоверных изменений уровня общего белка в РЖ и плазме крови при офтальмогерпесе не установлено.

Содержание изученных БОФ воспаления в слезе, РЖ и плазме крови больных при герпетическом кератите изменяется как у взрослых, так и у детей **(см. табл. 1, 2, рисунок)**. Наиболее значительно, почти в 4 раза, у детей в плазме крови при офтальмогерпесе увеличивается содержание СРБ, тогда как у взрослых — лишь в 2 раза **(см. табл. 1, 2)**. Значительное повышение в плазме крови уровня СРБ свидетельствует об остроте воспалительного процесса при инфицировании роговицы вирусом простого герпеса. В плазме крови больных с герпетическим кератитом в 1,5—2 раза увеличивается содержание ЦП, α_1-АТ, орозомукоида, а уровень трансферрина не изменяется по сравнению с таковым в контроле **(см. табл. 1, 2)**. Повышение содержания БОФ воспаления в плазме крови детей и взрослых при герпетическом кератите не зависит от клинической формы заболевания. После лечения при глубоких формах офтальмогерпеса уровень α_1-АТ в плазме крови взрослых и содержание орозомукоида в плазме крови детей, а также уровень СРБ в крови всех больных с герпетическим кератитом остается высоким. Нормализации уровня ЦП в плазме крови на фоне лечения у всех больных с герпетическим кератитом не наблюдается.



Содержание трансферрина в слезной жидкости при герпетическом кератите.

К — контроль, 1 — герпетический кератит, 2 — древовидный кератит (герпесинфицированный глаз), 3 — древовидный кератит (контралатеральный глаз), 4 — метагерпетический кератоиридоциклит с изъязвлением (герпесинфицированный глаз), 5 — метагерпетический кератоиридоциклит с изъязвлением (контралатеральный глаз).

Таблица 1. **Содержание БОФ воспаления в биологических жидкостях взрослых при герпетическом кератите**

Показатель	Группа	Слеза				Ротовая жидкость		Плазма крови	
		герпесинфицированный глаз		контралатеральный глаз					
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Общий белок, г/л	Здоровые	6,17±0,64				2,92±0,21		72,5±2,51	
	Больные	3,40±0,35	5,41±0,31	4,2±0,34	5,63±0,32	3,22±0,24	3,40±0,25	73,81±1,94	73,68±1,40
С-реактивный белок, мг/л	Здоровые	0,12±0,03				1,52±0,34		2,61±0,35	
	Больные	0,37±0,05	0,23±0,04	0,17±0,04	0,12±0,03	3,96±0,33	2,56±0,33	5,11±0,51	3,8±0,37
	p	<0,001	<0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,05	<0,001	<0,05
Орозомукоид, мг/дл	Здоровые	27,00±3,01				4,00±0,44		60,86±4,97	
	Больные	83,14±9,89	62,23±8,9	47,94±5,51	35,33±4,07	9,2±0,71	5,65±0,65	93,75±7,01	68,40±5,84
	p	<0,001	<0,001	<0,01	>0,05	<0,001	>0,05	<0,001	>0,05
α_1-антитрипсин, мг/дл	Здоровые	24,4±2,13				1,22±0,36		117,43±4,87	
	Больные	15,50±0,81	19,18±1,26	20,39±1,46	20,28±0,63	14,70±1,06	8,10±1,13	180,45±7,56	147,30±8,34
	p	<0,001	>0,05	>0,05	>0,05	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01
Церулоплазмин, мг/л	Здоровые	45,3±7,49				68,96±6,13		388,89±18,71	
	Больные	4,59±0,60	19,93±2,08	28,87±2,86	36,90±3,54	110,82±8,76	104,87±10,65	588,39±25,91	523,91±23,38
	p	<0,001	<0,01	>0,05	>0,05	<0,01	<0,01	<0,001	<0,001

Таблица 2. **Содержание БОФ воспаления в биологических жидкостях детей при герпетическом кератите**

Показатель	Группа	Слеза				Ротовая жидкость		Плазма крови	
		герпесинфицированный глаз		контралатеральный глаз					
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Общий белок, г/л	Здоровые	6,34±0,43				4,42±0,27		74,82±2,48	
	Больные	3,98±0,35	4,03±0,39	5,29±0,42	5,07±0,34	4,85±0,30	4,76±0,30	71,38±1,93	71,37±1,95
С-реактивный белок, мг/л	Здоровые	0,13±0,04				1,10±0,11		2,84±0,28	
	Больные	0,56±0,06	0,26±0,05	0,30±0,05	0,13±0,03	3,76±0,35	1,81±0,29	10,82±1,36	5,35±0,93
	p	<0,001	>0,05	<0,01	>0,05	<0,001	<0,05	<0,001	<0,05
Орозомукоид, мг/дл	Здоровые	31,0±5,40				2,81±0,44		71,0±6,46	
	Больные	94,33±7,85	67,82±7,3	48,74±4,44	29,85±3,09	7,63±0,93	4,53±0,74	128,89±8,73	104,05±10,62
	p	<0,001	<0,001	<0,02	>0,05	<0,001	>0,05	<0,001	>0,05
α_1-антитрипсин, мг/дл	Здоровые	31,08±3,38				4,43±0,50		150,44±12,38	
	Больные	11,56±1,18	19,78±1,90	18,11±1,73	27,89±2,05	10,42±0,88	5,79±0,81	186,47±6,93	148,32±6,78
	p	<0,001	<0,01	<0,001	>0,05	<0,001	>0,05	<0,01	>0,05
Церулоплазмин, мг/л	Здоровые	51,19±9,15				25,75±3,91		290,48±14,52	
	Больные	3,59±0,57	34,48±3,16	30,98±1,89	53,90±2,36	68,85±5,75	41,05±5,02	536,54±25,31	366,15±22,67
	p	<0,001	>0,05	<0,05	>0,05	<0,001	<0,02	<0,02	<0,05

В слезе здоровых людей из изученных БОФ воспаления концентрация СРБ оказалась минимальной, а содержание трансферрина в 2—2,5 раза выше уровня орозомукоида, α_1-АТ и на порядок больше содержания ЦП **(см. табл. 1, 2, рисунок)**. Герпетический кератит сопровождается разнонаправленными изменениями содержания в слезе изученных белков. В слезной жидкости больных при офтальмогерпесе содержание СРБ, орозомукоида увеличивается в 3—4 раза по сравнению с аналогичными показателями в контроле. При анализе по клиническим формам выявлено достоверное увеличение при метагерпетическом кератоиридоциклите с изъязвлением содержания орозомукоида в слезной жидкости всех больных и СРБ только в слезе взрослых лиц по сравнению с показателями при древовидном герпетическом кератите.

Содержание тканевого ингибитора протеиназ α_1-АТ снижается в слезе взрослых при герпетическом кератите в 1,5 раза, а у детей — почти в 3 раза по сравнению с результатами контроля. Данные изменения могут быть связаны с повышенным использованием этого белка на ингибирование активных протеолитических ферментов при воспалении роговицы. В слезе взрослых лиц наблюдаются достоверные различия уровня α_1-АТ в зависимости от глубины поражения роговицы вирусом простого герпеса. Дефицит этого белка способствует накоплению и агрессии протеолитических гидролаз в очаге повреждения, что поддерживает хроническое воспаление роговицы и рецидивирующее течение офтальмогерпеса [13].

Степень изменения концентрации БОФ воспаления в слезе больных с герпетическим кератитом коррелирует с глубиной поражения роговицы, частотой рецидивов и динамикой развития заболевания. Содержание БОФ воспаления изменяется в слезе не только герпесинфицированного, но и контралатерального глаза, что требует лечения обоих глаз при герпетическом кератите. При офтальмогерпесе в слезе детей и взрослых снижается в 1,5—2 раза содержание отрицательного реактанта воспаления и неферментативного антиоксиданта трансферрина **(см. рисунок)**.

Из изученных гликопротеинов в слезной жидкости наиболее значительно изменяется содержание ЦП, его уровень в слезе здоровых детей достоверно не отличается от такового в слезе взрослых. В слезной жидкости детей и взрослых больных с офтальмогерпесом содержание ЦП снижается почти на порядок по сравнению с показателями контроля при всех клинических формах заболевания **(см. табл. 1, 2)**.

При выписке из стационара после проведенного лечения офтальмогерпеса содержание трансферрина нормализуется в слезной жидкости детей и взрослых **(см. рисунок)**. При этом уровень СРБ и орозомукоида в слезе герпесинфицированного глаза нормализуется только при поверхностных формах офтальмогерпеса, тогда как при глубоких формах кератита нормализации содержания этих белков в слезе не наблюдается **(см. табл. 1, 2)**. Содержание ЦП в слезной жидкости взрослых после лечения герпетического кератита остается низким, а у детей в динамике заболевания мы наблюдали нормализацию уровня ЦП лишь при древовидном герпетическом кератите.

Источником плазменных протеинов в полости рта является десневая жидкость. При офтальмогерпесе в РЖ и плазме крови детей и взрослых увеличивается содержание всех изученных гликопротеинов, за исключением трансферрина **(см. табл. 1, 2)**. При этом в РЖ наиболее значительно повышается содержание СРБ, орозомукоида, α_1-АТ. Это связано с избирательной пропускной способностью гематосаливарного барьера пародонта для БОФ воспаления [14].

Биохимический анализ слезы и РЖ позволяет оценить интенсивность воспаления и эффективность лечения больных офтальмогерпесом. Высокий уровень СРБ, орозомукоида и низкое содержание ЦП, α_1-АТ, трансферрина в слезе при герпетическом кератите, отсутствие нормализации содержания БОФ воспаления в биологических жидкостях при выписке является прогностически неблагоприятным признаком, отражает интенсивность процессов воспаления в роговице, свидетельствует о незавершенности воспалительного процесса и необходимости продолжения лечения.

Заключение

Количественное определение содержания белков острой фазы воспаления в слезе и ротовой жидкости является ранним чувствительным индикатором воспаления, может применяться для неинвазивного мониторинга и контроля эффективности противовирусной терапии офтальмогерпеса. Исследование ротовой жидкости позволяет расширить возможности неинвазивной диагностики офтальмогерпеса, что особенно актуально для детей.

Участие авторов:
Концепция и дизайн исследования: Н.Т.
Сбор и обработка материала: С.Р.
Статическая обработка: С.Р.
Написание текста: Н.Т., С.Р.
Редактирование: Н.Т.

Конфликт интересов отсутствует.

ЛИТЕРАТУРА

1. Каспаров А.А. Современные аспекты лечения офтальмогерпеса. *Вестник Российской АМН*. 2003;2:44-49.
2. Revere K, Davidson SL. Update on management of herpes keratitis in children. *Curr Opin Ophthalmol*. 2013;24(4):343-347.

   doi:10.1097/ICU.0b013e32836227d8.
3. Rowe AM, St Leger AJ, Jeon S, Dhaliwal DK, Knickelbein JE, Hendricks RL. Herpes keratitis. *Prog Retin Eye Res*. 2013;32(1):88-101.

   doi:10.1016/j.preteyeres.2012.08.002.
4. Терехина Н.А., Петрович Ю.А., Гольдфельд Н.Г. Прогнозирование рецидивов герпетического кератита с помощью определения активности дегидрогеназ слезы. *Вестник офтальмологии*. 1988;104(6):42-45.
5. Терехина Н.А., Реук С.Э., Петрович Ю.А. Использование ферментного анализа слезной жидкости для прогнозирования рецидива герпетического кератита у детей. *Вестник офтальмологии*. 2007;123(4):23-24.
6. Петрович Ю.А., Терехина Н.А., Реук С.Э., Сухова Т.В. Прооксиданты, мексидол и другие антиоксиданты при герпетическом стоматите, гингивостоматите и хроническом генерализованном пародонтите. *Российский стоматологический журнал*. 2010;4:17-19.
7. Петрович Ю.А., Терехина Н.А. Ферментная стратегия вируса простого герпеса. *Успехи современной биологии*. 1990;51(1):77-89.
8. Терехина Н.А., Реук С.Э., Атаманова Т.И. Сравнительный анализ содержания церулоплазмина в биологических жидкостях при герпетической инфекции. *Казанский медицинский журнал*. 2013;94(5):752-754.
9. Dati F, Schumann G, Thomas L. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470). *Eur J Clin Chem Clin Biochem*. 1996;34(6):517-520.
10. Weichselbaum TE. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am J Clin Pathol*. 1946;7:40-49.
11. Камышников В.С. *Клинико-биохимическая лабораторная диагностика*. Справочник. В 2 т. Т.1. Мн.: Интерпрессервис; 2003.
12. Терехина Н.А., Петрович Ю.А., Батуева Р.А. Влияние метода сбора слезной жидкости на ее состав. *Лабораторное дело*. 1989;6:27-30.
13. Петрович Ю.А., Терехина Н.А. Биохимия слезы и ее изменения при патологии. *Вопросы медицинской химии*. 1990;36(3):13-18.
14. Петрович Ю.А., Подорожная Р.П., Киченко С.М. Гематосаливарный барьер. *Российский стоматологический журнал*. 2004;4:39-45.

Поступила 15.03.2015