

Министерство здравоохранения Российской Федерации

**Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
Московский Государственный Медико-стоматологический Университет им.
А.И.ЕВДОКИМОВА**

**Федеральное Государственное бюджетное учреждение
«Московский научно-исследовательский институт глазных болезней им. Гельмгольца»
Минздрава России**

**ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЯ
В ДИАГНОСТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ ТЯЖЕЛЫХ
ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫХ УВЕИТОВ**

Методическое пособие

Москва - 2015

Пособие разработано

- сотрудниками кафедры глазных болезней (зав. кафедрой - докт. мед. наук, проф. Нероев В.В.) ФПДО Московского Государственного Медико-стоматологического Университета им.А.И. ЕВДОКИМОВА Минздрава России (директор проф. Янушевич О.О.) и
- сотрудниками отдела патологии сетчатки и зрительного нерва (руководитель отдела – докт. мед. наук, проф. В.В. Нероев) ФГБУ «Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России (директор - докт. мед. наук, проф. Нероев В.В.) и
- сотрудниками отдела иммунологии и вирусологии (руководитель отдела докт. биол. наук, проф. О.С. Слепова) ФГБУ «Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России (директор - докт. мед. наук, проф. Нероев В.В.)

Авторы:

Нероев В.В. - доктор мед. наук, профессор, директор ФГБУ «Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России; зав. кафедрой ФПДО Московского Государственного Медико-стоматологического Университета им.А.И. ЕВДОКИМОВА Минздрава России,

Танковский В.Э. - доктор мед. наук, старший научный сотрудник отдела патологии сетчатки и зрительного нерва ФГБУ «Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России,

Слепова О.С. - доктор биологических наук, проф. О.С. Слепова «ФГБУ «Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца»

Кричевская Г.И. – кандидат мед. наук, ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии «ФГБУ «Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца»

АННОТАЦИЯ

Диагностика и лечение увеитов, до настоящего времени, представляет актуальную проблему офтальмологии. Клиническая диагностика генерализованных увеитов (панувеитов) не представляет значительных трудностей. Большое значение придается серодиагностике широко распространенных хронических инфекций со склонностью к длительной персистенции в организме и с доказанными офтальмотропными свойствами, особенно при их реактивации. Эти инфекции относятся к разным классам. При длительно некупирующихся увеитах наиболее часто встречается инфицированность вирусами группы герпеса с серологическими признаками их реактивации, особенно в сочетании с токсоплазменной инфекцией, что необходимо учитывать при назначении лечения.

Лечение панувеитов, ассоциированных с длительной активной инфекцией, должно включать кортикостероиды, противовирусные препараты, антибиотики широкого спектра действия, эффективные против токсоплазм, микоплазм и хламидий.

Методическое пособие предназначено для врачей-офтальмологов поликлиник, специализированных офтальмологических стационаров и консультативных центров.

Введение

Диагностика и лечение увеитов, до настоящего времени, представляет актуальную проблему офтальмологии, социальная значимость которой определяется тем, что тяжелые формы этого заболевания являются существенным источником слепоты и слабовидения, особенно у лиц молодого трудоспособного возраста.

В настоящее время клиническая диагностика генерализованных увеитов (панувеитов) не представляет значительных трудностей. Симптоматика складывается из поражения переднего и заднего отделов глаза. Для генерализованного увеита характерны преципитаты на эндотелии роговицы, в передней камере может быть экссудат, гипопион, клетки, радужка может быть отечной с задними, передними синехиями, в стекловидном теле выявляется клеточная реакция, фиброз, нередко — экссудат. На глазном дне офтальмоскопируются ретинальные, хориоретинальные фокусы, которые могут носить сливной характер, при вовлечении в процесс сосудов сетчатки появляются гемorragии различной степени выраженности, может сформироваться клиническая картина ретинальной артериальной или венозной окклюзии. Следует отметить, что по клиническим симптомам и офтальмоскопической картине заболевания можно только заподозрить причину воспалительного процесса и крайне редко установить этиологию.

Тем более, что микроорганизм может быть основной причиной увеита (этиологическая роль), провоцировать развитие заболевания другой этиологии (триггерная роль) или изменять характер течения основного заболевания (отягощающий фактор). Поэтому для правильного лечения увеитов очень важна не только точная этиологическая диагностика, но и выявление инфекций, роль которых в возможном развитии увеита не столь очевидна.

В основе диагностики воспалительных поражений лежат иммунологические методы, направленные на выявление инфекций, их активности, оценку цитокинового статуса, выявление аутоиммунных

реакций, оценку системы комплемента, определение маркеров апоптоза, а также иммуногистохимические методы исследования.

Для выявления инфекций и их активности применяются следующие методы

- Иммуноферментный анализ (ИФА) позволяет определить специфические антитела в крови, во внутриглазных жидкостях.
- Иммунофлуоресцентный метод (ИФ) позволяет обнаружить антигены возбудителей в тканях глаза
- Полимеразная цепная реакция (ПЦР) выявляет нуклеиновые кислоты (НК) в крови, влаге передней камеры, стекловидном теле, оболочках глаза
- На активность инфекционного процесса указывают IgM-антитела IgM, IgG-антитела к неструктурным антигенам. Авидность антител (низкоавидные антитела) ПЦР-реального времени (количественный метод).

В настоящее время для диагностики глазных заболеваний широко применяются такие методы как иммуноферментный анализ и полимеразная цепная реакция, которые имеют свои достоинства и недостатки.

К преимуществам иммуноферментного анализа следует отнести: 1. исследование широкого спектра инфекций в одной пробе; 2. выявление стадии инфекции; 3. выявление активности инфекции; 4. высокая чувствительность. Из недостатков следует отметить: возможность получения ложноположительных результатов (особенно при исследовании IgM)

К преимуществам ПЦР относится: 1. очень высокая чувствительность (результаты при минимальном количестве материала); 2. специальные варианты для выявления активности инфекции (ПЦР-реального времени, ПЦР с обратной транскриптазой). К недостаткам следует отнести необходимость специальной лаборатории (занос нуклеиновых кислот из окружающей среды может приводить к ложноположительным и ложноотрицательным результатам).

При этиологической диагностике увеитов применяются различные методы. Наиболее достоверным считается выявление специфических антител и обнаружение генома возбудителя во внутриглазных жидкостях и тканях глаза. В настоящее время имеются работы, посвященные этой проблеме [1-10].

Также большое значение придается серодиагностике широко распространенных хронических инфекций со склонностью к длительной персистенции в организме и с доказанными офтальмотропными свойствами, особенно при их реактивации. Эти инфекции относятся к разным классам.

Показания и противопоказания

Показания:

Тяжелые некупирующиеся панувеиты

Противопоказания:

Нет.

Материально-техническое обеспечение

Набор реагентов для иммуноферментного выявления в сыворотке (плазме крови) иммуноглобулинов различных классов.

Лекарственные препараты: дексаметазон (капли 0,1%, ампулы по 4 мг), преднизолон (таблетки по 5 мг), спирамицин таб. 3 млн), ацикловир (таб. 400 мг, зовиракс (флаконы 250 мг).

Описание медицинской технологии

Нами обследовано 85 больных в возрасте от 17 до 73 лет с диагнозом генерализованный увеит. Необходимо отметить, что все пациенты ранее проходили лечение в других медицинских учреждениях и обратились к нам в институт с некупированным в течение последних 2 - 3 месяцев воспалительным процессом. При обследовании пациентов у 9-ти чел. (10,6%) была выявлена фокальная инфекция (гайморит, этмоидит и др.), у 4 - х чел. (4,7%) - туберкулезное поражение сосудистого тракта, у 16 чел. (18,8%) - системные и синдромные поражения (болезнь Бехтерева, болезнь

Бехчета, ревматоидный полиартрит и др.). Отдельную группу 56 чел. составили больные с генерализованным увеитом, у которых возможная причина заболевания осталась неясной. Эти пациенты и представили для нас основной интерес. Поражение обоих глаз было у 33 чел. (62,5%), из них признаки активности увеита на одном глазу выявлены у 23 чел.

Всем больным проводились иммуноферментные исследования на широкий спектр антител к каждому возбудителю, что позволяло оценить наличие и активность инфекции (табл. 1)

Таблица 1

Гуморальный иммунный ответ на инфекционные антигены (антитела)

Инфекция	Антитела в сыворотке крови	Результат	Метод ИФА (норма)
Вирус простого герпеса 1 и 2 типа	IgG		< 0,18
	IgM		< 0,31
ВПГ 1	IgG к ранним антигенам		< 0,35
ВПГ 2	IgG к ранним антигенам		< 0,35
Цитомегаловирус	IgG		< 0,36
	IgM		< 0,35
	IgG к предраннему антигену		< 0,35
Вирус Эпштейна-Барра	EBNA (IgG)		< 0,18
	EA (IgG)		< 0,28
	VCA (IgM)		< 0,24
Токсоплазмоз	IgG		отр.
	IgM		отр.
Токсокароз	IgG		отр
Хламидия трахоматис	IgG		отр
	IgA		отр
	IgM		отр
Хламидия пневмоние	IgG		отр
Уреаплазма	IgG		1:5
	IgA		отр
Микоплазма гоминис	IgG		отр
	IgA		1,5
Антитела к микобактериям туберкулеза	Суммарные		отр

Полученные результаты показали, что практически все больные были инфицированы герпес-вирусами (вирусом простого герпеса (97,2%),

цитомегаловирусом (89,3%) и вирусом Эпштейна-Барра (96,2%), о чем свидетельствовало наличие Ig G антител. Ig M, как маркеры первичной инфекции, выявлялись у единичных больных. Противовирусные антитела (Ig G) к ранним антигенам, указывающие на реактивацию инфекции, были обнаружены у 37 чел. (66,1%). Причем, наиболее часто выявлялись серологические маркеры реактивации ВПГ 1 и ВПГ 2 и их сочетание в 79% (42,1%, 15,8%, 21,1% соответственно). Ни у одного пациента не были выявлены серологические маркеры активации моноинфекции ЦМВ или Эпштейна-Барра. Токсоплазменное инфицирование выявлено у 58,9%, хламидийное (хламидии трахоматис и пневмонии) — у 28,5%, микоплазменное, включая уреоплазмы — у 33,9%.

Микст-инфицирование обнаружено у 62,% больных. Из них наиболее часто встречалась вирусная инфекция в сочетании с токсоплазмозом 22 чел. (64,7%). У остальных пациентов были три и более инфекций (вирусная инфекция+микоплазмы (уреоплазмы) + хламидии 3 чел. 8,8% %, вирусная инфекция+токсоплазмоз+микоплазмы 2 чел. 5,8%, вирусная инфекция+токсоплазмоз+хламидии 2 чел. 5,8%, токсоплазмоз+хламидии + микоплазмы (уреоплазмы) 2 чел. 5,8%. вирусная инфекция +токсоплазмоз+хламидии + микоплазмы (уреоплазмы) 3 чел. 8,8%).

Моноинфекции выявлены у 33,9% (среди них вирусная с признаками активации - у 8 чел. 14,3 %, токсоплазмоз 4 чел. 7,2%, хламидии 3 чел. 5,3 %, микоплазмы 1 чел. 1,8%, инфекция не выявлена у 3 чел. 5,3% (сл 9)

Таким образом, при длительно некупирующихся увеитах наиболее часто встречается инфицированность вирусами группы герпеса с серологическими признаками их реактивации, особенно в сочетании с токсоплазменной инфекцией, что необходимо учитывать при назначении лечения.

Нами проведено лечение 56 больным (87 глаз) с некупированными в течение 2 — 3 мес. генерализованными увеитами.

Схема лечения:

1. Местная кортикостероидная терапия (инстилляци 4 — 6 раз, с/к

дексаметазон (1 - 2 мг), п/б дексаметазон (2 — 4 мг).

2. Системная кортикостероидная терапия: в/в дексаметазон 12 — 20 мг/сутки № 3 — 5 через день; внутрь: преднизолон 30 - 60 мг/сутки

3. Антибактериальная терапия: ровамицин (спирамицин) 6 — 9 млн/сутки 7 — 14 дней

4. Противовирусная терапия: ацикловир 200 — 800 мг 5 раз/сутки 7 — 20 дней и более; в/в кап. Зовиракс по 5 — 30 мг/кг 3 раза в сутки с интервалом 8 часов 7 — 10 дней, затем по 200 — 400 мг 10 — 15 дней.

В результате такой тактики процесс был купирован на 9 - 14 день у 34 больных (60,7%), у 13 чел. (23,2%) симптомы увеита начали регрессировать и к 21 дню признаков активности не выявлялось. У 8 - ми больных (14,3%) лечение потребовало продолжения п/б инъекций дипроспана и перорального назначения кортикостероидов, на которых удалось достичь ремиссии к 30 - 35 дню лечения, у 1-го пациента (1,8%) отмечено клиническое улучшение, однако, полной ремиссии достигнуто не было.

Таким образом, серологический тест – эффективный метод выявления инфекций, их стадии и активности; смешанная инфекция – важнейшее звено развития хронических некупирующихся увеитов (может выступать в качестве этиологического или отягощающего фактора).

Лечение панувеитов, ассоциированных с длительной активной инфекцией, должно включать кортикостероиды, противовирусные препараты, антибиотики широкого спектра действия, эффективные против токсоплазм, микоплазм и хламидий.

Возможные осложнения при использовании медицинской технологии

При проведении иммуноферментного анализа осложнений нет.

При назначении лечения возможны побочные эффекты и осложнения.

Кортикостероидная терапия. Местные побочные эффекты и осложнения: офтальмогипертензия, глаукома, катаракта. Системные побочные эффекты: кушингоидный хабитус с ожирением туловища,

гиперлипидемия, артериальная гипертония, понижение толерантности к глюкозе, нарушение менструального цикла у женщин, мышечная слабость, гирсутизм, лейкоцитоз, эозинопения, лимфопения, пептическая язва, перфорация тонкой и толстой кишки, панкреатит, остеопороз, асептические некрозы костей.

Противовирусные препараты. Побочное действие: аллергические реакции, повышенная утомляемость, головная боль, диарея, тошнота и рвота. При внутривенном введении возможно увеличение содержания билирубина, креатинина и мочевины в крови.

Антибиотики. Побочное действие: тошнота, рвота, диарея, псевдомембранозный колит, острый колит, со стороны печени: изменения функциональных проб и развитие гепатита, сыпь на коже, крапивница, кожный зуд, ангионевротический отек, анафилактический шок.

Эффективность медицинской технологии

Использование серологических тестов для выявления широко распространенных хронических инфекций со склонностью к длительной персистенции в организме и с доказанными офтальмотропными свойствами, особенно при их реактивации, позволило повысить эффективность лечения больных с тяжелыми некупирующимися генерализованными увеитами. Так, процесс был купирован на 9 - 14 день у 60,7%, к 21-му дню - у 83,9%.

Рекомендуемая литература

1. Глазные болезни. Под редакций В.Г. Копаевой. Учебник для медицинских ВУЗов. – М., Медицина. 2002 г.
2. Ален К. Хоу /пер. с англ. Под редакцией С.Э.Аветисова, В.К. Сургуча. Сетчатка. Цветной атлас. -2009. -252с.
3. Глазные болезни. Под редакций В.Г. Копаевой. Учебник для медицинских ВУЗов. – М., Медицина. 2008 г
4. Кански Дж. Клиническая офтальмология: систематизированный подход. Пер. с англ./Д. Кански. – М.: Логосфера, 2009. - 944 с.: ил.
5. Кански Дж. Офтальмология. Признаки. Причины. Дифференциальная диагностика. – 2012. – 584 с.
6. Кански Дж., Милевски Станислав А., Дамато Бертил Э., Тэннер Воган. Заболевания глазного дна. – 2008. – 424с.
7. Криглстайн Г.К., Ионеску-Сайперс К.П., Северин М., Вобиг М.А. /Пер. с англ., под ред. А.Н. Амирова. Атлас по офтальмологии.– - 2009. – 432с.
8. Спэлтон Дэвид Дж., Хитчинг Роджер А., Хантер Пол А. / Пер. с англ. под общ. ред. А.Н. Амирова Атлас по клинической офтальмологии.- М.: МЕДпресс-информ, 2007. - 724 с.: ил.
9. Тахчиди Х.П. Офтальмология в вопросах и ответах. – 2009. -336с.
10. Шлоте Т.,Рорбах Й, Грюб М.,Мильке Й. / Пер. с англ., по ред. А.Н.Амирова. Атлас по офтальмологии.- 2010. – 264

Тестовые задания

Выбрать один верный ответ

1. Преимущества иммуноферментного анализа:

- А. Очень высокая чувствительность (результаты при минимальном количестве материала)
- Б. Исследование широкого спектра инфекций в одной пробе

2. К преимуществам ПЦР относится:

- А. Очень высокая чувствительность
- Б. Необходимость специальной лаборатории

3. Какое сочетание системных офтальмотропных инфекций встречается наиболее часто:

- А. Вирусная инфекция+микоплазмы (уреаплазмы) + хламидии
- Б. Токсоплазмы+хламидии + микоплазмы (уреаплазмы)
- В. Вирусная инфекция + токсоплазмы

4. Какие препараты необходимо использовать при лечении панuveитов, ассоциированных с длительной активной инфекцией

- А. Цитостатические (циклоспорин, метотрексат)
- Б. Иммуностимулирующие
- В. Кортикостероиды, противовирусные препараты, антибиотики широкого спектра действия, эффективные против токсоплазм

5. Какие жидкости организма необходимо исследовать для установления этиологии увеита

- А. Сыворотку крови
- Б. Слезную жидкость
- В. Влагу передней камеры, стекловидное тело

Ответы:

1. Б.
2. А
3. В
4. В

Рецензенты:

Доктор медицинских наук, профессор
кафедры офтальмологии ФДПО
РНИМУ им. Н.И. Пирогова

Евграфов В. Ю.

Старший научный сотрудник отдела
травматологии и реконструктивной
хирургии ФГБУ «Московский НИИ
глазных болезней им. Гельмгольца»
Минздрава РФ

Иванов А.Н.