

comprised 25 practically healthy individuals.

Results. The study of the HRV obtained during De Kleyn Test was characterized by decreasing of total power of spectrum in patients of all groups, that shows activation of sympathetic representation of autonomic nervous system. It was shown that the increasing power of spectrum in the area of very lower frequency (especially in the 1 group of patients) reflects activating of sympathetic part of the autonomic nervous system, providing realization of ergotropic activity. Overstrain of trophotropic activity in 2 group of patients were characterized by increasing power of spectrum in the area of high frequency, that reflects activating of compensatory mechanism of autonomic nervous system, directed to normalization of autonomic imbalance. The most significant data were detected in 3 group of patients, reflecting autonomic disturbances during performing provocative functional probe.

Thus, statistical analysis of dynamic of HRV data in examined patients pointed out the common tendency towards the reduction of vagus influence, which was considered as vessel-protective mechanism and to displacement of autonomic balance in sympathetic activation, especially in patients with ischemic stage of SVBD.

Conclusions. Based on the data obtained the evidence of an adequacy of HRV application to estimate the condition of autonomic nervous system has been proved. The most significant data of heart rate variability before and after performing de Kleyn probe have been revealed. The usage of functional provocative probe (de Kleyn) allows us to demonstrate the most significant data reflecting adaptive reactions of organism to loading. The obtained data may be used as marker that shows the involvement of autonomic (segmental) levels of regulation during performing provocative functional probes. That is why the studying of AD according to hemodynamic changes, performing functional probes, may reveal the pathogenetic mechanisms of SVBD development. These data could be applied in pathogenetical treatment of such patients.

УДК 617.713-002:616.523-07

Никитчина Т.С., Сакович В.Н.

ОСОБЕННОСТИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ГЕРПЕТИЧЕСКОГО КЕРАТИТА

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МОЗ Украины».

КУ «Днепропетровская областная клиническая офтальмологическая больница».

В работе приведены данные по изучению информативности ДНК-анализа слезы методом ПЦР при разных типах герпетического кератита. Пациенты с герпетическим кератитом были разделены на 3 группы: 1. Эпителиальный кератит (древовидный и географический) – 20 человек; 2. Стромальный кератит – 18 человек; 3. Эндотелиит – 5 человек. Помимо общепринятых офтальмологических обследований, всем пациентам до начала лечения проводился анализ слезы методом ПЦР на наличие ДНК ВПГ 1 и 2 типа. Во всех 20 случаях эпителиального кератита в слезе определялась ДНК ВПГ тип 1. В 8 случаях стромального кератита так же определялся ВПГ тип 1. ВПГ не определялся в случаях эндотелиита. Ни в одном из случаев не определялся ВПГ тип 2. Наблюдалась хорошая корреляция типичной клинической картины герпетического кератита с выявлением вирусной ДНК, что говорит о репродукции вируса.

Ключевые слова: герпетический кератит, вирус простого герпеса 1 и 2 тип, лабораторная диагностика, полимеразная цепная реакция.

Вирусом простого герпеса (ВПГ) инфицирована большая часть мировой популяции. Эта инфекция часто асимптоматична, но глазная форма инфицирования ВПГ приводит к сложной патологии со значительным повреждением роговицы. ВПГ считается лидирующей причиной слепоты в развитых странах. Во всем мире каждый год возникает приблизительно 1,5 миллиона случаев герпетического кератита, включая 40 000 новых случаев значительного снижения зрения или слепоты [1]. Герпетические заболевания глаз манифестируют разнообразной клинической картиной: древовидный кератит, персистирующая эпителиальная эрозия, дисциформный кератит, эндотелиит, что создает трудности при постановке диагноза [2,3]. ВПГ тип 1 и 2 распространены повсеместно, трансмиссия осуществляется при прямом контакте с вирус - инфицированным секретом. Инфициро-

вание ВПГ 1 увеличивается с возрастом, более 70% взрослых пациентов во всем мире серопозитивны к ВПГ. Частота определения антител к ВПГ 2 зависит от пола, возраста и факторов риска [4]. В прошлом существовало мнение об избирательном поражении ВПГ-1 исключительно области лица, а ВПГ-2 наружных половых органов, что находило свое подтверждение при серологическом обследовании больных. Имеющиеся сегодня данные не совпадают с ним, свидетельствуя об общем для обоих типов вируса тропизмом [5]. ВПГ тип 1, вызывает поражение преимущественно верхней половины тела, иннервируемой тройничным нервом, в то время как ВПГ тип 2, нижней половины. Последние сообщения свидетельствуют о том, что оба типа могут инфицировать обе части тела, вызывая одинаковые симптомы, а так же микст - инфекции [6]. Патологические изменения рогови-

цы, иммуновоспалительные по природе, могут рецидивировать в течение всей жизни и часто приводят к прогрессирующему роговичному рубцеванию со снижением зрения. ВПГ – «хамелеон», с различными типами проявлений, не всегда типичными [7,8]. Подтверждение герпетической природы инфекции базируется на клинической картине, подкрепленной лабораторными тестами.

Существует несколько методов лабораторной диагностики герпеса: 1) ПЦР диагностика; 2) Серологические исследования; 3) Выделение и культивирование возбудителя на культурах клеток; 4) Биологическая проба.

Из-за высокой чувствительности ПЦР диагностики и серологических исследований возможны ложноположительные результаты [5,9,10]. Определение нуклеиновой кислоты ВПГ в биологическом материале – золотой стандарт клинической диагностики в настоящее время [11]. ПЦР диагностика – наиболее дорогостоящий метод, но наиболее быстрый, точный и надежный метод определения вирусной ДНК при герпетическом кератите благодаря высокой специфичности и чувствительности. При поверхностном герпетическом кератите позволяет проводить очень точный мониторинг эффективности лечения [12, 13, 14]. Типичная клиническая картина кератита хорошо коррелирует с положительным результатом ПЦР, особенно при эпителиальных дефектах или древовидном кератите. В 50% случаев атипичного кератита определяется положительный результат ПЦР [15]. При эпителиальных кератитах ДНК ВПГ определяется во всех случаях, при активном стромальном дисциформном кератите – в половине случаев, и не определяется в случае «тихого» стромального кератита или эндотелиита. Используя этот метод мы демонстрируем то, что происходит репродукция вируса [3].

При заражении вирусом герпеса наблюдается последовательный синтез Ig M, G, A. Их основное действие направлено на блокировку возбудителя за счет образования иммунных комплексов антиген- антитело, и тем самым снижения его патогенетического действия на клетки эпителия и организм в целом. Механизм действия антител направлен на ВПГ и инфицированные им клетки, угнетение размножения возбудителя в очаге его проникновения, предупреждения распространения инфекции через межклеточные пространства, снижение уровня вирусемии в организме, но гуморальные механизмы не могут полностью предупредить активацию латентного ВПГ. При рецидивах наблюдается такая же последовательность образова-

ния иммуноглобулинов, как и при первичном инфицировании, синтез которых происходит на фоне имеющихся антител к вирусу, что ведет к повышению их уровня во время обострений [10]. В случаях субклинической или нераспознаваемой герпетической инфекции, серологическое определение иммуноглобулинов класса G может оказаться полезным [16].

Выделение и культивирование возбудителя на культурах клеток обеспечивает возможность непосредственного наблюдения и анализа распространения ВПГ у лабораторных животных и в эмбриональных тканях человека. Биологическая проба является наиболее редким типом диагностики. Как правило, ставится для воспроизведения герпетического кератита у подопытных животных [5,17].

Цель исследования

Изучение особенностей лабораторной диагностики методом ПЦР у пациентов с разными типами герпетического кератита.

Материалы и методы

Под нашим наблюдением находилось 43 пациента с предположительно герпетическим кератитом, по данным объективного осмотра. Из них мужчин было 31, женщин 12. Возраст пациентов от 25 до 73 лет. Пациенты были разделены, в соответствии с последней классификацией Исследовательской группы инфекционных герпетических кератитов (Herpetic keratitis Infection Research Group, Davison et al., 2005), на 3 группы: 1. Эпителиальный кератит (древовидный и географический) – 20 человек; 2. Стромальный кератит – 18 человек; 3. Эндотелиит – 5 человек. Помимо общепринятых офтальмологических обследований, всем пациентам до начала лечения проводился анализ слезы методом ПЦР на наличие ДНК ВПГ 1 и 2 типа. Забор слезы для исследования производился микропеткой из конъюнктивального мешка, непосредственно в лаборатории. Проведение реакции требует в среднем 3 часа.

Результаты и их обсуждения

Во всех 20 случаях эпителиального кератита в слезе определялась ДНК ВПГ тип 1. В 8 случаях стромального кератита так же определялся ВПГ тип 1. ВПГ не определялся в случаях эндотелиита (таб.1). Ни в одном из случаев не определялся ВПГ тип 2. Наблюдалась хорошая корреляция типичной клинической картины герпетического кератита (эрозивное и изъязвленное поверхностного эпителия) с выявлением вирусной ДНК, что говорит о репродукции вируса.

Таблиця 1
Результаты исследования слезы пациентов методом ПЦР.

3 группы пациентов	Количество пациентов в группе	Положительный результат ПЦР к ВПГ
1. Эпителиальный кератит (древовидный и географический)	20 человек	20 пациентов «+» ВПГ 1 тип-100%
2. Стромальный кератит	18 человек	8 пациентов «+» ВПГ 1 тип-44,4%
3. Эндотелиит	5 человек	ДНК ВПГ 1 и 2 типа не определялась

*Ни у одного пациента не определялась ДНК ВПГ 2 тип.

Выводы

1. ДНК - диагностика является коммерчески доступным, быстрым и надежным методом определения этиологической причины заболевания у пациентов с поверхностными формами кератита и некоторыми формами стромального кератита. Проведение ПЦР - диагностики необходимо не только для определения лечебной тактики, но так же и для точного мониторинга и коррекции терапии с учетом лабораторных результатов.

2. При глубоких патологических изменениях роговицы и отсутствии повреждения поверхностного эпителия меньше вероятность обнаружить ДНК ВПГ в слезе. Поэтому несмотря на самую высокую чувствительность и специфичность ПЦР, не во всех случаях герпетического кератита возможно определение ДНК ВПГ в слезе, по этой причине мы считаем целесообразным так же определять иммуноглобулины А, М, G к ВПГ в крови пациентов с предполагаемым герпетическим кератитом.

Литература

1. Farooq A.V. Herpes simplex epithelial and stromal keratitis: an epidemiologic update / A.V. Farooq, D. Shukla // Survey of ophthalmology. – 2012. – №57. – P. 448-462.
2. Fukuda M. Presence of a large amount of herpes simplex virus genome in tear fluid of herpetic stromal keratitis and persistent epithelial defect patients / M. Fukuda, T. Deai, S. Higaki, K. Hayashi [et.al] // Seminars in Ophthalmology. – 2008. – №23. – P. 217-220.
3. Fukuda M. Quantitative analysis of herpes simplex virus genome in tears from patients with herpetic keratitis / M. Fukuda, T. Deai, T. Hibino [et.al] // Cornea. – 2003. – № 22. – P. 55-60.
4. Binnicker M.J. Evaluation of Three Multiplex Flow Immunoassays Compared to an Enzyme Immunoassay for the Detection and Differentiation of IgG Class Antibodies to Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 / M.J. Binnicker, D.J. Jespersen, J.A. Haring // Clinical & Vaccine Immunology. – 2010. – №17. – P. 253-257.
5. Самгин М.А. Простой герпес (дерматологические аспекты) / М.А. Самгин, А.А. Халдин. – М. : МЕДпрессинформ, 2002.
6. Kaneko H. Evaluation of mixed infection cases with both herpes simplex virus types 1 and 2 / H. Kaneko, T. Kawana, K. Ishioka [et.al] // Journal of medical virology. – 2008. – №80. – P. 883-887.
7. Rowe A.M. Herpes keratitis / A.M. Rowe, A.J. St Leger, S. Jeon [et.al] // Progress in retinal & eye research. – 2013. – №32. – P. 88-101.
8. Seitz B. "Herpetic keratitis". Various expressions require different therapeutic approaches / B. Seitz, A. Heiligenhaus // Ophthalmologie. – 2011. – №108. – P. 385-395.
9. Leigh JF. Does asymptomatic shedding of herpes simplex virus on the ocular surface lead to false-positive diagnostic PCR results? / Leigh JF, Acharya N, Cevallos V, Margolis TP // British Journal of Ophthalmology. 2008 Mar;92(3):435-6.
10. Rhoda Ashley Morrow. Use of "biokit HSV-2 Rapid Assay" to improve the positive predictive value of Focus HerpeSelect HSV-2 ELISA / Rhoda Ashley Morrow, David Friedrich, Amalia Meier, Lawrence Corey // BMC Infectious Diseases. 2007 October 14; 5:84.
11. Thomson DA. Oligonucleotide and polymer functionalized nanoparticles for amplification-free detection of DNA / Thomson DA, Tee EH, Tran NT, Monteiro MJ, Cooper MA // Biomacromolecules. Institute for Molecular Bioscience, University of Queensland, Brisbane, Australia. 2012 Jun 11; 13(6):1981-9.
12. Hlinomazov Z. Applying the DNA diagnostics in patients with superficial keratitis of viral origin/ Hlinomazov Z, Serz O, Horbckov M, Pitelov R, Loukotov V, Vlkov E // Cesk Slov Oftalmol. 2008 Mar; 64(2):47-51.
13. Hlinomazov Z. The treatment of HSV1 ocular infections using quantitative real-time PCR results/ Hlinomazov Z, Loukotov V, Horbckov M, Lberg O // Acta Ophthalmologica. 2012 Aug; 90(5):456-60.
14. Gitman MR. Comparison of Simplex™ HSV 1 & 2 Direct PCR with Culture, Immunofluorescence and Laboratory Developed TaqMan PCR for Detection of Herpes Simplex Virus in Swab Specimens/Gitman MR, Ferguson D, Landry ML // Journal of clinical microbiology. 2013 Sep 4. [Epub ahead of print].
15. Kamimura A. Molecular detection of herpes simplex virus by polymerase chain reaction in patients with typical and atypical herpetic keratitis/ Kamimura A, Takata MI, Fernandes AC, Neves JP, Viegas MT, Murata VY, Nogueira ML, Almeida Junior GC // Arquivos brasileiros de oftalmologia. 2008 Nov - Dec ; 71(6):827-30.
16. M. J. Binnicker. Evaluation of Three Multiplex Flow Immunoassays Compared to an Enzyme Immunoassay for the Detection and Differentiation of IgG Class Antibodies to Herpes Simplex Virus Types 1 and 2/ M. J. Binnicker, D. J. Jespersen, and J. A. Haring // Clinical and vaccine Immunology. 2010 February; ;17(2):253-7.
17. Hafezi W. Reciprocal transmission of herpes simplex virus type 1 (HSV-1) between corneal epithelium and trigeminal neurites in an embryonic chick organ culture/Hafezi W, Eing BR, Lorentzen EU, Thanos S, Kohn JE // FASEB Journal: Federation of American Societies for Experimental Biology, 2002 Jun; 16(8):878-80.

Реферат

ОСОБЛИВОСТІ ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ ГЕРПЕТИЧНОГО КЕРАТИТУ

Нікітчина Т.С., Сакович В. М.

Ключові слова: герпетичний кератит, вірус простого герпесу 1 та 2 типу, лабораторна діагностика, полімеразна ланцюгова реакція.

У статті приведені дані про вивчення інформативності ДНК-аналізу слюзи методом ПЛР при різних типах герпетичного кератиту. Пацієнти були поділені на 3 групи : 1. Епітеліальний кератит – 20 пацієнтів; 2. Стромальний кератит – 18 пацієнтів; 3. Ендотеліт – 5 пацієнтів. Всім пацієнтам до початку лікування проводили аналіз слюзи на ДНК вірусу простого герпесу 1 та 2 тип. В усіх пацієнтів з епітеліальним кератитом в слюзі виявлявся вірус простого герпесу 1 тип, та лише у 8 пацієнтів зі стромальним кератитом. ВПГ не виявлявся у пацієнтів з ендотеліітом.

Summary

PECULIARITIES OF LABORATORY DIAGNOSIS OF HERPETIC KERATITIS.

Sakovich V.N., Nikitchina T. S.

Key words: herpetic keratitis, herpes simplex virus type 1 & 2, laboratory diagnostics, polymerase chain reaction.

Introduction. The most part of human population is infected by virus herpes simplex. This infection is often symptom-free, but ophthalmological form of disease leads to complicated pathology with serious corneal damage. Virus herpes simplex is in the lead cause of blindness in developed countries. There are several

types of laboratory diagnostics: 1. Polymerase chain reaction; 2. Serological investigations; 3. Cultural method; 4. Bioassay. Polymerase chain reaction is the gold standard of clinical diagnostics, is very reliable in the cases of superficial forms of keratitis, but only in half cases helps to detect virus in material. Serological investigations may be useful to. Cultural method and bioassay are the rare types of diagnostics for modeling disease in laboratory animals.

Objective. The goal was to study peculiarities of laboratory diagnostics of herpetic keratitis by polymerase chain reaction in different types of herpetic keratitis.

Materials and methods. Due to last classification of Herpetic keratitis Infection Research Group (Davison et al., 2005) 43 patients were divided into 3 groups: 1. Epithelial keratitis–20 patients; 2. Stromal keratitis–18 patients; 3. Endothelitis–5 patients. Before treatment tears of all patients were investigated by polymerase chain reaction to detect herpes simplex virus type 1 & 2 (HVS).

Results and discussion. All 20 patients with epithelial keratitis were herpes simplex virus type 1 positive. 8 patients with stromal keratitis were also herpes simplex virus type 1 positive. Virus herpes was not detected in cases of endothelitis. Herpes simplex virus type 2 did not determine at all. There was a good correlation of typical clinical picture and detection of herpes simplex virus.

Conclusions. 1. PCR-diagnostics is commercial accessible, fast and reliable method in the cases of epithelial keratitis and some cases of stromal keratitis. It is important not only for treatment strategy but also for accurate monitoring. 2. In cases of stromal keratitis when epithelium is not damaged it is ideally to add serological methods, because probability of HVS detection is smaller. We consider that investigation of Ig A, M, G may be useful.

УДК:616.13-004.6:616.61-036.1-08-78

Овська О. Г., Садовов А. С.

СТАН СУДИННОЇ КАЛЬЦИФІКАЦІЇ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ХВОРОБУ НИРОК V СТАДІЇ, ЩО ОТРИМУЮТЬ ЛІКУВАННЯ ПРОГРАМНИМ ГЕМОДІАЛІЗОМ

Запорізький державний медичний університет

В статті представлені результати обстеження когорти гемодіалітичних хворих для верифікації такого ускладнення як судинна кальцифікація. Визначена поширеність та розповсюдженість кальцифікації черевного відділу аорти методом мультизрізової комп'ютерної томографії та звичайної рентгенографії, також проведена низка лабораторних тестів та добове моніторування артеріального тиску. Під час дослідження встановлений кореляційний зв'язок різної сили між ступенем судинної кальцифікації з одного боку та діалітичним стажем, САТ, ДАТ, ПАТ, сироватковими рівнями загального кальцію, фосфору та фосфорно-кальцієвого продукту з іншого боку. Дослідження продемонструвало, що судинна кальцифікація є поширеним ускладненням термінальної ниркової недостатності. Поперекова латеральна рентгенографія практично не поступається за інформативністю мультизрізовій комп'ютерній томографії у верифікації кальцифікації черевного відділу аорти.

Ключові слова: хронічна хвороба нирок, програмний гемодіаліз, судинна кальцифікація, артеріальна гіпертензія.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи Запорізького державного медичного університету, кафедри внутрішніх хвороб № 2 «Патогенетичні, клінічні і прогностичні особливості уражень органів-мішеней у хворих з серцево-судинними захворюваннями та розробка і обґрунтування нових напрямків діагностики, профілактики і лікування».

Вступ

Багаточисельні дослідження продемонстрували взаємозв'язок між ураженням серцево-судинної системи та кістково-мінеральними порушеннями у вигляді остеопорозу, остеопенії, високої або низької кісткової активності у пацієнтів з кінцевою стадією хронічною хворобою нирок (ХХН). Механізми взаємовідносин в системі «кістка-судина» обумовлені наявністю загальних факторів, що впливають на кісткове ремоделювання та судинну кальцифікацію (СК), а також участю кісткових клітин в структурно-функціональній перебудові судин [13]. Васкулярні ураження в популяції гемодіалітичних хворих виникають в результаті таких чинників, характерних для загальної популяції, як атеросклероз, вік, запалення, цукровий діабет [27] та факторів, асоційованих саме з ХХН: зміни з боку ендо-

кринної регуляції продукування ПТГ, кальцитріолу, фактору росту фібробластів, порушенням кальцій-фосфорного обміну [9, 2].

Кальцифікація коронарних артерій, як прояв СК, є одним із компонентів синдрому кістково-мінеральних порушень при ХХН. В ряді досліджень СК постала незалежним валідним предиктором смерті з кардіоваскулярних причин як в загальній популяції [12], так і у хворих на замісній нирковій терапії [19, 4]. За даними літератури, у пацієнтів з ХХН V стадії СК була діагностована у 90% хворих, у пацієнтів з ХХН IV-V переддіалітичною стадією – знайдена вже у 50-60% хворих [8] та прогресувала зі зниженням ШКФ [25].

Традиційні фактори ризику призводять до атеросклеротичного ураження, що морфологічно проявляється у вигляді кальцинозу інтими. Специфічні для ХХН зміни характеризуються так