

DOI: <https://doi.org/10.17816/rpoj100403>

Особенности антителообразования к индивидуальным белкам цитомегаловируса у детей с кератитами и увеитами

Г.И. Кричевская¹, Л.А. Катаргина¹, Г.И. Алаторцева², В.В. Доценко², Л.Н. Нестеренко²¹ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Российская Федерация² НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Клинический диагноз цитомегаловирусной патологии глаз у детей нуждается в лабораторном подтверждении. Недостатки определения антител к цитомегаловиirusу (ЦМВ) в сыворотке в иммуноферментном анализе (ИФА) — наличие ложноположительных и ложноотрицательных результатов.

Цель. Определить особенности синтеза антител к белкам тегумента pp65, pp150, pp28 и ДНК-связывающему белку pp52 цитомегаловируса, а также сопоставить диагностическую эффективность двух лабораторных методов серодиагностики ЦМВИ у детей с увеитами и кератитами разного генеза: иммуноферментного анализа и линейного иммуноанализа.

Материал и методы. Обследовано 30 детей (возраст 5–16 лет) с увеитами (n=14) и кератитами (n=6). В иммуноферментном анализе определяли IgM-, IgG-антитела к поздним антигенам ЦМВ, маркерам первичной и хронической цитомегаловирусной инфекции (ЦМВИ), а также IgG-антитела к предраннему антигену-маркеру реактивации хронической ЦМВИ. В линейном иммуноанализе (ЛИА) исследовали IgG-антитела к индивидуальным рекомбинантным антигенам ЦМВ, содержащим только иммунодоминантные белковые фрагменты вирусных антигенов: основного неструктурного предраннего белка IE, ДНК-связывающего фосфопротеина p52, фосфопротеинов тегумента p150, p65, p28p. Результаты ЛИА оценивали визуально.

Результаты. Инфицированность ЦМВ детей с увеитами в ИФА почти в 2 раза выше, чем с кератитами (10/14–71% vs 6/16–37,5%). Из четырёх положительных результатов выявления антител к IE-антигену в ИФА в ЛИА подтвердился только один. В целом, несовпадение результатов определения IgG-антител к IE-антигену при ИФА и ЛИА отмечено в 13% образцов сывороток. В случае ЛИА у детей с увеитами частота ($p > 0.05$) и интенсивность ($p < 0.05$) антителообразования к вирусным антигенам p65 и p52 была выше, чем у пациентов с кератитами.

Заключение. Оба метода обнаружили более высокую инфицированность ЦМВ детей с увеитами, чем с кератитами, что подтверждает важную роль ЦМВИ в патогенезе увеитов. IgG-антитела к IE-антигену — серологические маркеры реактивации хронической ЦМВИ — имеют важное клиническое значение, так как служат основанием для назначения противовирусной терапии. Расхождения результатов при использовании ИФА и ЛИА в детекции антител к IE-антигену указывают на целесообразность подтверждения данных ИФА в ЛИА.

Таким образом, лабораторное исследование сывороток в ИФА с последующим анализом антител к индивидуальным рекомбинантным антигенам ЦМВ в ЛИА представляет собой эффективный высокочувствительный и высокоспецифичный способ верификации ЦМВ-инфекции и определения её активности. Наиболее информативно определение IgG-антител к рекомбинантным антигенам ЦМВ: IE, p65 и p52.

Ключевые слова: дети; цитомегаловирус; ЦМВ; иммуноферментный анализ; ИФА; линейный иммуноанализ; ЛИА; рекомбинантные цитомегаловирусные антигены; увеиты; кератиты.

Как цитировать:

Кричевская Г.И., Катаргина Л.А., Алаторцева Г.И., Доценко В.В., Нестеренко Л.Н. Особенности антителообразования к индивидуальным белкам цитомегаловируса у детей с кератитами и увеитами // *Российская педиатрическая офтальмология*. 2022. Т.17. №1. С. 5–11.

DOI: <https://doi.org/10.17816/rpoj100403>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rpoj100403>

Characteristics of antibody production to individual cytomegalovirus proteins in children with keratitis and uveitis

Galina I. Krichevskaya¹, Lyudmila A. Katargina¹, Galina I. Alatortseva², Vera V. Dotsenko², Lyubov N. Nesterenko².

¹ Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

² I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

The clinical diagnosis of cytomegalovirus (CMV) eye pathology in children needs laboratory confirmation. The disadvantages of determining antibodies to CMV in serum in enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) include the presence of false positive and false negative results.

AIM: To determine the features of the synthesis of antibodies to the proteins of the tegument pp65, pp150, pp28 and the DNA-binding protein pp52 of cytomegalovirus, as well as to compare the diagnostic effectiveness of two laboratory methods of serodiagnostics of CMVI in children with uveitis and keratitis of different genesis: enzyme immunoassay and linear immunolysis.

MATERIAL AND METHODS: A total of 30 children (age 5–16 years) with uveitis (n=14) and keratitis (n=16) were included in the study. The IgM and IgG antibodies to the immediate early (IE) and late antigens of the virus (serological markers of primary, chronic, and reactivation of chronic infection) were determined in the ELISA. The IgG antibodies to individual recombinant CMV antigens containing only immunodominant protein fragments of viral antigens were studied in the line immunoassay (LIA): the main nonstructural IE protein, DNA-binding phosphoprotein p52, and phosphoproteins of the tegument p150, p65, and p28. The results of LIA were evaluated visually.

RESULTS: CMV infection (CMVI) in children with uveitis in ELISA was almost 2 times higher than that with keratitis (10/14%–71% vs. 6/16%–37.5%, $p > 0.05$). Of the four positive results for detection of antibodies to IE antigen in ELISA, one was confirmed in LIA. In general, the discrepancy between the results of the determination of IgG antibodies to IE antigen in ELISA and LIA was noted in 13% of serum samples. LIA showed the increased frequency ($p > 0.05$) and intensity ($p < 0.05$) of antibody formation to viral antigens p65 and p52 in uveitis compared with keratitis, which confirmed the important role of CMVI in the pathogenesis of uveitis.

CONCLUSION: Both methods revealed a higher level of CMVI in children with uveitis than those with keratitis. IgG antibodies to IE-antigen serological markers of the reactivation of chronic CMVI have clinical importance because they serve as the basis for the appointment of antiviral therapy. Discrepancies between the results of ELISA and LIA in the detection of antibodies to IE antigen indicate the expediency of confirming the results of ELISA in LIA.

Thus, laboratory examination of sera in ELISA with subsequent analysis of antibodies to individual recombinant CMV antigens in LIA is an effective, highly sensitive, and highly specific method to verify CMVI and determine its activity. The most informative action is the determination of IgG antibodies to recombinant CMV antigens: IE antigens, p65, and p52.

Keywords: children; CMV; ELISA; Line-Immunoassay; Line-Blot; recombinant antigens; uveitis; keratitis.

To cite this article:

Krichevskaya GI, Katargina LI, Alatortseva GI, Dotsenko VV, Nesterenko LN. Characteristics of antibody production to individual cytomegalovirus proteins in children with keratitis and uveitis. *Russian pediatric ophthalmology*. 2022;17(1):5–11. DOI: <https://doi.org/10.17816/rpoj100403>

Received: 09.02.2022

Accepted: 14.02.2022

Published: 03.05.2022

ВВЕДЕНИЕ

Цитомегаловирус человека (ЦМВ — Human cytomegalovirus, HCMV), или вирус герпеса человека типа 5 (ВГЧ-5 — Human Herpesvirus 5, HHV-5), относится к семейству герпесвирусов (Herpesviridae), подсемейству беттагерпесвирусов (Betaherpesvirinae). ЦМВ широко распространён во всем мире, инфицирование происходит в любом возрасте, но преимущественно в раннем. ЦМВ — одна из основных причин перинатальных (внутриутробных, интранатальных и ранних постнатальных) инфекций. Внутриутробная инфекция эмбриона возможна в любом гестационном возрасте, причём симптоматика во многом зависит от времени заражения [1].

Первичное инфицирование ЦМВ (внутриутробное или после рождения) в большинстве случаев протекает бессимптомно, реже возникают клинически выраженные заболевания с вовлечением разных органов. Как и все герпесвирусы, после первичного заражения ЦМВ не элиминируется из организма человека, в результате возникает пожизненная персистирующая ЦМВ-инфекция (ЦМВИ), формы которой разнообразны. При латентной форме (наиболее распространённой) ЦМВ сохраняется в иммунокомпетентных клетках человека в неактивном состоянии. Основные очаги латенции — моноциты и их предшественники, эндотелиальные клетки сосудов микроциркуляторного русла, альвеолярные макрофаги, Т-лимфоциты и стромальные клетки костного мозга. Для хронической ЦМВИ характерна очень слабая репликация вируса без клинически выраженных очагов воспаления, но с длительным выделением ЦМВ во внешнюю среду с секретами и жидкостями организма. Возможна реактивация латентной ЦМВИ с интенсивной репликацией вируса и манифестацией болезни. ЦМВИ относится к оппортунистическим инфекциям, при которых латентный вирус легко реактивируется под влиянием многочисленных внешних и внутренних факторов (переохлаждение, травмы, стрессы, другие заболевания, иммуносупрессия).

В ответ на ЦМВ инфекцию в организме синтезируются специфические антитела. В начале первичной инфекции продуцируются противовирусные иммуноглобулины М (IgM), низкоавидные IgG-антитела, антитела к предраннему неструктурному антигену, затем их сменяют высокоавидные IgG-антитела к поздним структурным антигенам, сохраняющиеся в организме пожизненно в связи с постоянным присутствием вируса.

Как у всех герпесвирусов, вирион цитомегаловируса включает геном (линейную двухцепочечную ДНК), капсид (белковую оболочку, состоящую из 162 капсомеров, окружающих геном), наружную оболочку (суперкапсид) и тегумент (tegument)-матрицу (аморфный белковый слой, расположенный между капсидом и суперкапсидом). ЦМВ — самый крупный из герпесвирусов человека. Его геном кодирует синтез более 200 вирусных белков, среди которых различают структурные и неструктурные.

Неструктурные белки активно участвуют в репродукции вируса, но не входят в состав зрелого вириона; структурные, напротив, формируют вирусные частицы (вирионы). Половина всех вирусных белков вириона содержится в тегументе, в основном в виде фосфопротеинов (pp). Большинство из них участвует во всех стадиях репродукции вируса (внедрение ЦМВ в клетку, экспрессия вирусных генов, синтез вирусных белков, сборка и выход вириона из клетки, уклонение от иммунной системы хозяина) [2].

Среди многочисленных фосфопротеинов тегумента ЦМВ очень важную роль в репродукции вируса, обеспечении ускользания вирионов от иммунной надзора хозяина и создании условий для пожизненного сохранения вируса в иммунном организме отводят главным белкам тегумента: pp 65, pp 150, pp28 [2].

Фосфопротеин pp65, основной компонент внеклеточных вирусных частиц, ингибирует распознавание иммунными клетками ранних вирусных белков ЦМВ, играет ключевую роль в уклонении от иммунной системы, прежде всего от врождённого иммунитета [3].

Фосфопротеин pp150 обеспечивает правильную сборку новых вирусных частиц в инфицированной клетке, по объёму он занимает второе место после pp65 [2].

Фосфопротеин pp28-регулирует выход вновь образованных вирионов из клетки, отличается высокой иммуногенностью [2].

Фосфопротеин pp52 — ДНК-связывающий белок ЦМВ, его также относят к предранним белкам, его роль в репродукции вируса активно обсуждается, хотя не вполне ясна [4].

Верификация ЦМВ-этиологии врождённого заболевания в отдалённые после родов сроки представляет определённые трудности, т.к. в этот период определение вируса в жидкостях и секретах организма может дать отрицательные результаты, хотя после внутриутробной инфекции вирус выделяется в течение длительного времени (6 и более месяцев). Серологические исследования позволяют уточнить наличие и стадию инфекции по спектру определяемых противовирусных антител. Антитела к ЦМВ класса IgM являются маркерами первичной инфекции, IgG-антитела — к структурным антигенам-хронической инфекции, а IgG-антитела — к предранним неструктурным антигенам ЦМВ в сочетании с IgG-антителами — к структурным антигенам отражают реактивацию хронической инфекции.

Среди глазных проявлений приобретённой ЦМВИ чаще всего упоминают хориоретиниты, увеиты, ретиниты, особенно у иммунодепрессированных детей (с онкологическими заболеваниями, ВИЧ-инфекцией, получающих иммуносупрессивную терапию). Описаны тяжёлые ЦМВ-ретиниты у детей с ретинобластомой на фоне химиотерапии. Превентивная противовирусная терапия значительно снижала риск их развития [5], хотя реактивация хронической ЦМВИ с клинической манифестацией наблюдается чаще всего у иммуносупрессированных пациентов.

Известны ЦМВ-заболевания глаз, развивающиеся у иммунокомпетентных взрослых и детей. Постоянно расширяется спектр заболеваний глаз, ассоциируемых с ЦМВИ. Так, у ребёнка трёх лет описан ЦМВ-кератит, который, по данным авторов, хорошо купировался противовирусной терапией, включающей системное назначение иммуноглобулина человека антицитомегаловирусного и ганцикловира в течение 21 дня [6].

При стандартной серодиагностике ЦМВИ с использованием ИФА нельзя уточнить, экспрессия каких вирусных антигенов обусловила выработку антител. Этот вопрос решается с помощью методов, выявляющих антитела к индивидуальным вирусным антигенам (иммуноблот, лайн-блот, вестерн-блот), что более точно, чем характеристика класса иммуноглобулинов, позволяет дифференцировать первичную, хроническую и реактивацию хронической инфекции и исключить ложноположительные результаты.

В литературе имеются данные о важной и неоднозначной роли каждого из белков тегумента ЦМВ в инфекционном процессе [2]. Обследование взрослых с патологией глазного дна выявило различную интенсивность синтеза антител к индивидуальным белкам ЦМВ у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией и центральной серозной хориоретинопатией в условиях реактивации ЦМВ [7].

Цель. Определить особенности синтеза антител к белкам тегумента pp65, pp150, pp28 и ДНК-связывающему белку pp52 цитомегаловируса и сопоставить диагностическую эффективность двух лабораторных методов серодиагностики ЦМВИ у детей с увеитами и кератитами разного генеза: иммуноферментного анализа и линейного иммуноанализа.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 30 детей, в том числе 16 детей с кератитами в возрасте от 4 до 16 лет (средний возраст 9,0 лет) и 14 детей с увеитами в возрасте от 13 месяцев до 17 лет (средний возраст 9,5 лет). Всем пациентам было проведено тщательное офтальмологическое обследование, при необходимости назначались консультации ревматолога, невролога, отоларинголога. У всех детей при обращении в институт брали кровь из локтевой вены. Сыворотки крови до постановки анализа хранились при -20°C .

Антитела к структурным антигенам и основному предраннему неструктурному антигену (IE) ЦМВ исследовали в иммуноферментном анализе (автоматический ИФА-анализатор Лазурит, США) с диагностическими наборами «Векто-ЦМВ-IgM», «Векто-ЦМВ-IgG» (АО «Вектор-Бест», Россия), «БиоСет-актив-ЦМВ» (АО БТК «Биосервис», Россия).

IgM- и IgG-антитела к структурным антигенам ЦМВ без уточнения их антигенной специфичности рассматривали как маркёры первичной и хронической инфекции, соответственно; IgG-антитела к основному неструктурному

предраннему белку IE свидетельствовали о реактивации хронической ЦМВИ.

Одновременно с ИФА сыворотки исследовали методом линейного иммуноанализа (ЛИА, лайн-блот), определяли IgG-антитела к индивидуальным рекомбинантным антигенам (АГ) ЦМВ, полученным в НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова: IE, p52, p150, p65, p28. Белки тегумента относятся к фосфопротеинам (pp). В ЛИА использовали рекомбинантные антигены p52, p150, p65, p28, полученные в бактериальной системе экспрессии и очищенные методами эксклюзионной и аффинной хроматографии. Рекомбинантные антигены содержали только высокоспецифичные для ЦМВ иммунодоминантные белковые фрагменты (p) вирусных антигенов.

Постановку ЛИА осуществляли следующим образом. Рекомбинантные антигены p52, p150, p65, p28 сорбировали на полосках нитроцеллюлозной мембраны в виде отдельных линий. В качестве отрицательного антигена использовали β -галактозидазу *E.coli*, контролем правильности проведения реакции служила иммунная сыворотка к IgG-человека. Детекцию образовавшегося комплекса «антитело-рекомбинантный АГ» проводили с помощью моноклональных антител мыши к Fab-фрагменту IgG-человека, конъюгированному с пероксидазой хрена.

Результаты оценивали визуально по интенсивности окрашивания линий (1+, 2+, 3+), проявляющегося после контакта с сывороткой пациента в области нанесения индивидуальных антигенов в сопоставлении с контрольными положительным и отрицательным антигенами.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью программы Biostat, определяли точный критерий Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ

ИФА. В ИФА обнаружена более высокая инфицированность ЦМВ детей с увеитами по сравнению с детьми с кератитами. IgG-антитела к поздним структурным ЦМВ-антигенам (маркёрам хронической инфекции) выявлены у 10 из 14 (71,4%) детей в группе с увеитами и у 6 детей из 16 (37,5%) — с кератитами ($p > 0.05$).

Маркёры первичной инфекции — IgM-антитела к поздним структурным антигенам ЦМВ в ИФА — не выявлены ни у одного из 30 обследованных детей. Серологические маркёры реактивации хронической ЦМВ-инфекции (ЦМВИ) — IgG-антитела к IE-антигену — определялись очень редко: у трёх из 10 детей с увеитами и у одного из 6 детей с кератитами. Уровень IgG-антител к IE-антигену у всех четырёх детей был низкий.

ЛИА. У серонегативных в ИФА пациентов антитела к отдельным исследованным антигенам ЦМВ в ЛИА не обнаруживались. Результаты анализа сывороток крови в ЛИА представлены в таблице.

Антитела к IE-антигену выявлены в сыворотке только одного пациента с увеитом, у которого в ИФА также

Таблица. Частота выявления IgG-антител (линии с интенсивностью окрашивания 1+, 2+, 3+) к рекомбинантным антигенам ЦМВ у пациентов с увеитами и кератитами, хронически инфицированных ЦМВ (линейный иммуноанализ)

Table. Detection rate of IgG antibodies (bands 1+, 2+, and 3+) to CMV recombinant antigens in CMV-infected patients with uveitis and keratitis and chronic CMVI (LIA)

Интенсивность окраски полос Intensity of band staining	Обследовано (n) Total examined (n)		IE		p150		p52		p65		p28	
	Увеиты Uveitis	Кератиты Keratitis	Увеиты Uveitis	Кератиты Keratitis	Увеиты Uveitis	Кератиты Keratitis	Увеиты Uveitis	Кератиты Keratitis	Увеиты Uveitis	Кератиты Keratitis	Увеиты Uveitis	Кератиты Keratitis
3+			0	0	3	2	1	0	1	1	3	0
2+			0	0	2	1	3	0	5	0	2	2
1+	10	6	2	1	2	1	0	2	4	4	3	2
2+ и 3+			0	0	5/10	3/6 ¹	4/10 ^{*1}	0 ¹	9/10 ²	1/6 ²	5/10	2/6
							p <0.05		p <0.05			
1, 2, 3+			2/10	1/6	7/10	5/6	4/10	2/6	10/10	5/6	8/10	4/6

* в знаменателе число обследованных пациентов, в числителе — число пациентов, серопозитивных к данному рекомбинантному антигену с интенсивностью окрашивания линий 2+ и 3+; ¹p52 — p <0.05 ²p65 — p <0.05.

* in the denominator of patients seropositive for specific recombinant antigen and in the numerator of patients with detected bands with 2+ and 3+ staining intensity to specific recombinant antigen; 1p52, p <0.05; 2p65, p <0.05.

обнаружены антитела к этому белку. Достоверных различий в частоте определения антител к индивидуальным антигенам в целом (с любой интенсивностью окраски линий) в ЛИА между детьми с увеитами и кератитами не отмечено (p >0.05). Однако число детей с интенсивным антителным ответом (2+ и 3+) к p52 и p65 было достоверно выше у пациентов с увеитами по сравнению с больными кератитами (p <0.05).

ОБСУЖДЕНИЕ

ЦМВ играет важную роль при врожденной и приобретенной патологии органа зрения у детей. На клинические формы поражения глаз при внутриутробной инфекции влияет характер ЦМВИ (первичная или реактивация хронической), уровень вирусной нагрузки, сроки гестации и др. Часто манифестация последствий внутриутробной инфекции наступает спустя длительные сроки после рождения ребёнка. Иммуносупрессия способствует обострению хронической ЦМВИ. Описаны ЦМВ-ретиниты у детей с ретинобластомой на фоне химиотерапии. Причём авторы подчёркивают, что превентивная противовирусная терапия значительно снижала риск их развития [5]. Сообщается также о ЦМВ заболеваниях глаз у взрослых и детей вне иммуносупрессии.

Разнообразие клинических проявлений ЦМВ-заболеваний глаз при врожденной и постнатальной инфекции затрудняет их этиологическую диагностику без использования специальных лабораторных методов.

В практической медицине наиболее распространена серодиагностика методом твёрдофазного иммуноферментного анализа (ИФА). Однако встречающиеся

ложноположительные результаты на IgM-антитела, невозможность сравнения уровней IgG-антител при использовании тест-систем разных фирм-производителей обусловило необходимость разработки и применения иммуноблота в качестве подтверждающего теста. Иммуноблот позволяет дифференцировать антитела к отдельным вирусным антигенам. Формат иммуноблота с использованием в качестве антигенов нативного вирусного лизата (Western-Blot) менее чувствительный, чем формат линейного иммуноанализа (ЛИА, Line-Blot) с рекомбинантными антигенами ЦМВ. Исследование образцов сывороток в ЛИА позволяет исключить как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты, полученные в результате ИФА. Метод ЛИА является вариантом мультиплексного анализа и позволяет тестировать исследуемый образец сыворотки в одной реакции одновременно с несколькими антигенами. Преимущество его перед другими вариантами иммуноблота заключается в применении рекомбинантных вирусспецифических антигенов в количествах, намного превосходящих их содержание в составе препаратов, полученных из цельных вирионов. К преимуществам ЛИА относится также возможность выявления антител к диагностически значимым белкам, которые присутствуют в составе цельновирионных препаратов в минорных количествах.

Антитела к IE-антигену (предраннему вирусному белку) — маркёры активной литической инфекции. Экспрессия предранних генов, кодирующих этот белок, запускает каскад последовательной экспрессии ранних и поздних генов, кодирующих структурные вирусные белки, и необходима для репликации ЦМВ.

У обследованных нами пациентов IgG-антитела к IE-антигену в ИФА обнаружили у трёх из 10 детей с увеитами и у одного ребёнка с кератитом в низком уровне. По результатам ЛИА наличие антител к IE-антигену подтвердили лишь у одного пациента с увеитом, остальные три ребёнка, серопозитивные в ИФА, в ЛИА оказались серонегативными. При этом ещё у одного ребёнка с увеитом в ЛИА выявили IgG-антитела к IE-антигену, хотя исследование в ИФА дало отрицательные результаты. Наличие маркёров реактивации ЦМВИ имеет важное клиническое значение, т.к. указывает на неблагоприятный фактор, который может ухудшать течение воспалительного процесса в глазу и потребовать коррекцию терапии. При слабopоложительных результатах ИФА и при подозрении на реактивацию ЦМВИ имеются прямые показания для постановки подтверждающего теста (ЛИА) для предотвращения клинических ошибок.

Результаты обоих тестов совпали у ребёнка 16 лет с задним увеитом. Локализация воспалительного процесса в заднем отрезке глаза, высокий уровень IgG-антител к структурным антигенам ЦМВ в ИФА, выявленное в ЛИА интенсивное (окраска 2+–3+) антителообразование к индивидуальным белкам вируса: p52, p65 и p28, позволяет предположить у данного пациента реактивацию хронической ЦМВИ.

Фосфопротеин pp65 относится к мажорным белкам тегумента. Антитела к рекомбинантному антигену p65 обнаружены у большинства серопозитивных в ИФА детей, частота их выявления в обеих обследованных группах существенно не отличалась (увеиты 10 из 10, кератиты 5 из 6 пациентов). Достоверное отличие между двумя группами наблюдалось в интенсивности антителообразования: у детей с увеитами преобладала окраска линий 2–3+, а при кератитах 1+ ($p < 0.05$). Роль pp65 в жизненном цикле ЦМВ разнообразна. По-видимому, хроническая ЦМВИ более значима в патогенезе увеитов, чем кератитов, что сопровождается усиленной экспрессией pp65 в целях обеспечить вирусу защиту (уклонение) от иммунного надзора хозяина, в первую очередь, от врождённого звена иммунитета. Блокировать ряд противовирусных защитных механизмов и обеспечить персистенцию вируса в иммунокомпетентном организме — одна из основных функций pp65 [3, 7].

По результатам ЛИА интенсивное образование IgG-антител (2–3+) к p52, предраннему ДНК-связывающему белку ЦМВ, обнаружено у детей с увеитами и не выявлено у детей с кератитами ($p < 0.05$), у которых наблюдалось только слабое антителообразование (1+). Роль pp52 в репликативном цикле ЦМВ не до конца ясна. Некоторые авторы рассматривают IgM-антитела к p52 у взрослых пациентов с синдромом хронической усталости как маркёры активной ЦМВ-инфекции [4]. Нельзя исключить, что у детей с увеитами интенсивное антителообразование к p52 также отражало реактивацию вируса. Однако этот вопрос требует дальнейших исследований.

Существенных различий в частоте и интенсивности образования антител к остальным исследованным антигенам тегумента мы не обнаружили, что может быть в определённой степени связано с малочисленностью групп.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Инфицированность ЦМВ детей с увеитами почти в 2 раза выше, чем детей с кератитами (10/14–71% vs 6/16–37,5%, $p > 0.05$). Хотя различия статистически не достоверны, что возможно связано с ограниченным числом обследованных, они отражают более важную роль ЦМВ в этиопатогенезе увеитов по сравнению с кератитами.

В ЛИА выявлено также повышение частоты ($p > 0.05$) и интенсивности ($p < 0.05$) антителообразования к рекомбинантным индивидуальным вирусным антигенам p65 и p52 при увеитах по сравнению с кератитами, что, по-видимому, отражает важную роль ЦМВИ в патогенезе увеитов.

Сравнительный анализ определения IgG-антител к IE-антигену вируса в ИФА и ЛИА выявил несовпадение результатов в 4 из 30 (13%) образцах сывороток. Серологические маркёры реактивации хронической ЦМВИ (IgG-антитела к IE-антигену) у детей с офтальмопатологией имеют важное клиническое значение, т.к. могут служить основанием для назначения противовирусной терапии. Наши данные свидетельствуют о целесообразности использования линейного иммунного анализа в качестве подтверждающего теста в подобных случаях.

Таким образом, лабораторное исследование сывороток в ИФА с последующим анализом антител к индивидуальным рекомбинантным антигенам ЦМВ в ЛИА — эффективный высокочувствительный и высокоспецифичный способ верификации ЦМВ-инфекции и определения её активности. При обследовании детей с воспалительной офтальмопатологией наиболее информативными оказались результаты определения антител к предраннему неструктурному белку (IE) и двум антигенам тегумента: pp52 и pp65.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

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

ADDITIONAL INFO

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Савичева А.М. Инфекции плода, матери и новорожденного. 2014. Т. 5, № 3. С. 3–8. doi: 10.17816/ped533-8
2. Kalejta R.F. Tegument proteins of human cytomegalovirus // *Microbiol Mol Biol Rev.* 2008. Vol. 72, N 2. P. 249–265, table of contents. doi: 10.1128/MMBR.00040-07
3. Biolatti M., Dell'Oste V., De Andrea M., Landolfo S. The human cytomegalovirus tegument protein pp65 (pUL83): a key player in innate immune evasion // *New Microbiol.* 2018. Vol. 41, N 2. P. 87–94.
4. Beqaj S.H., Lerner A.M., Fitzgerald J.T. Immunoassay with cytomegalovirus early antigens from gene products p52 and CM2 (UL44 and UL57) detects active infection in patients with chronic fatigue syndrome // *J Clin Pathol.* 2008. Vol. 61, N 5. P. 623–626. doi: 10.1136/jcp.2007.050633

REFERENCES

1. Savicheva AM. Infections in mother, fetus and newborn infant. *Pediatrician (St Petersburg).* 2014;5(3):3–8. (In Russ). doi: 10.17816/ped533-8
2. Kalejta RF. Tegument proteins of human cytomegalovirus. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2008;72(2):249–265, table of contents. doi: 10.1128/MMBR.00040-07
3. Biolatti M, Dell'Oste V, De Andrea M, Landolfo S. The human cytomegalovirus tegument protein pp65 (pUL83): a key player in innate immune evasion. *New Microbiol.* 2018;41(2):87–94.
4. Beqaj SH, Lerner AM, Fitzgerald JT. Immunoassay with cytomegalovirus early antigens from gene products p52 and CM2 (UL44 and UL57) detects active infection in patients with

5. Han M.S., Choi E.H., Lee H.J., et al. Cytomegalovirus disease in a retinoblastoma cohort: The role of preemptive screening // *Pediatr Blood Cancer.* 2020. Vol. 67, N 3. P. e28101. doi: 10.1002/pbc.28101
6. Галеева Г.З., Расческов А.Ю. Кератит цитомегаловирусной этиологии у ребёнка (случай из практики) // *Практическая медицина.* 2016. № 2–1. С. 128–130.
7. Нероев В.В., Кричевская Г.И., Алаторцева Г.И. и др. Особенности продукции IgG-антител к индивидуальным белкам цитомегаловируса при различных заболеваниях глаз (возрастной макулярной дегенерации и центральной серозной хориоретинопатии) // *Инфекция и иммунитет.* 2021. Т. 11, № 3. С. 530–538. doi: 10.15789/2220-7619-FOI-1424.

- chronic fatigue syndrome. *J Clin Pathol.* 2008;61(5):623–626. doi: 10.1136/jcp.2007.050633
5. Han MS, Choi EH, Lee HJ, et al. Cytomegalovirus disease in a retinoblastoma cohort: The role of preemptive screening. *Pediatr Blood Cancer.* 2020;67(3):e28101. doi: 10.1002/pbc.28101
6. Galeeva GZ, Rascheskov AY. Cytomegalovirus keratitis in child (case study). *Practical medicine.* 2016;(2–1):128–130. (In Russ).
7. Neroev VV, Krichevskaya GI, Alatorseva GI, et al. Features of IgG-antibodies production to individual Cytomegalovirus proteins in various eye diseases (age-related macular degeneration and central serous chorioretinopathy). *Russian Journal of Infection and Immunity.* 2021;11(3):530–538. (In Russ). doi: 10.15789/2220-7619-foi-1424

ОБ АВТОРАХ

*Кричевская Галина Исааковна, кандидат медицинских наук; адрес: Россия, 105062 Москва, ул. Садовая-Черногрозская, д.14/19; eLibrary SPIN: 6808-0922; e-mail: gkri@yandex.ru

Катаргина Людмила Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор; Author ID: 137428; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4857-0374>; e-mail: katargina@igb.ru

Алаторцева Галина Ивановна, кандидат биологических наук; eLibrary SPIN: 8911-3000; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9887-4061>

Доценко Вера Васильевна, кандидат биологических наук; eLibrary SPIN: 9250-0131; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5866-944X>

Нестеренко Любовь Николаевна, кандидат химических наук, eLibrary SPIN: 6819-7980; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3825-3906>

AUTHORS INFO

*Galina I. Krichevskaya, MD, PhD; address: 14/19 Sadovaya-Chernogriazskaya street, 105062 Moscow, Russia; eLibrary SPIN: 6808-0922; e-mail: gkri@yandex.ru

Lyudmila A. Katargina, MD, Dr. of Sci. (Med.), professor; AuthorID: 137428; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4857-0374>; e-mail: katargina@igb.ru

Galina I. Alatorseva, PhD (Biology), eLibrary SPIN: 8911-3000; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9887-4061>

Vera V Dotsenko, PhD (Biology), Senior Researcher; eLibrary SPIN: 9250-0131; ORCID: 0000-0002-5866-944X

Lyubov N. Nesterenko, PhD (Chemistry); eLibrary SPIN: 6819-7980; ORCID <https://orcid.org/0000-0002-3825-3906>

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author