

ЛИТЕРАТУРА

1. Вейн А.М. Заболевания вегетативной нервной системы. — М., 1991. — 624 с.
2. Вейн А.М. Вегетативные расстройства: клиника, диагностика, лечение. — М.: Медицинское информационное агентство, 2000. — 752 с.
3. Ивашкин В.Т. Некоторые направления развития гастроэнтерологии и гепатологии // Рос. журнал гастроэнтеролог, гепатолог, колопроктолог. — 1996. — Т. VI. № 1. — С. 8-13.
4. Лобзин Ю.В. Инфекционные болезни: проблемы адаптации. — СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2006. — 392 с.
5. Маев И.В., Бардеништейн Л.М., Антоненко О.М., Каплан Р.Г. Психосоматические аспекты заболеваний желудочно-кишечного тракта // Клин. мед. — 2002. — № 11. — С. 12-14.
6. Омарова Х.Г., Макашова В.В., Коган Б.М. Клинико-прогностическое значение катехоламинов при вирусных гепатитах // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2004. — № 5. — С. 58-61.
7. Петров В.И., Попов А.С., Иноземцев А.В. Интегральная оценка функционального состояния вегетативной нервной системы // Вестник РАМН. — 2004. — № 4. — С. 35-37.
8. Рахманова А.Г. Хронические вирусные гепатиты и цирроз печени / Под ред. А.Г.Рахмановой. — СПб.: СпецЛит, 2006. — 413 с.
9. Салтыков А.Б. Теория функциональных систем и клиническая медицина // Клин. мед. — 2008. — № 1. — С. 28-29.
10. Циммерман Я.С., Циммерман И.Я. Депрессивный синдром в гастроэнтерологии: диагностика и лечение // Клин. мед. — 2007. — № 5. — С. 41-44.

Адрес для переписки: Ильмухина Лариса Владимировна, Ульяновский государственный университет, ассистент кафедры инфекционных и кожно-венерических болезней. e-mail: ilmuhin@gmail.com

© КИСЕЛЕВА Л. М., ИГЛИНА М. А. — 2008

ЭКСПРЕССИЯ АНТИГЕНА ВИЧ В ЦЕРВИКАЛЬНОЙ СЛИЗИ КАК ПОКАЗАТЕЛЬ СТЕПЕНИ РИСКА ИНТРАНАТАЛЬНОГО ЗАРАЖЕНИЯ ПЛОДА

Л. М. Киселева, М. А. Иглина

(Ульяновский государственный университет; Институт медицины, экологии и физической культуры)

Резюме. Распространенность ВИЧ-инфекции среди беременных женщин в настоящее время составляет 0,1%. На всех этапах течения ВИЧ-инфекции у данной категории женщин выявляется дисбаланс иммунной системы. На местном уровне — в цервикальной слизи у 91,4% ВИЧ-позитивных беременных выявлена экспрессия антигена ВИЧ различной степени выраженности (от + до +++), что повышает риск интранатального инфицирования при ведении родов через естественные родовые пути.

Ключевые слова: ВИЧ, цервикальная слизь, риск интранатального заражения плода.

EXPRESSION OF A HIV— ANTIGEN IN A CERVICAL SLIME AS AN EXPONENT OF A RISK OF AN INTRANATAL INFECTION OF A FETUS

L.M. Kiseleva, M.A. Igolina

(Ulyanovsk State University, Institute of Medicine, Ecology and Physical training, Russia)

Summary. Prevalence of the HIV-infection among pregnant women now amounts to 0,1 %. At all stages of course of the HIV-infection in the given category of women infringement of immune system comes to light. Direct correlation of decrease in level CD4 cells with clinical progressing disease is marked. At a local level — in cervical slime in 91,4 % of HIV-positive pregnant women presence of an antigen of a HIV of a various degree of expressiveness (from + up to +++) is revealed, that raises risk of infection in conducting deliveries through natural labor ways. The given parameter is necessary for using at a choice of tactics of conducting deliveries in HIV-infective women.

Key words: HIV, cervical slime, risk of an intranatal infection of a fetus.

При отсутствии оптимистической перспективы в плане излечения ВИЧ-инфекции, возникает необходимость совершенствовать профилактическую помощь путем:

- профилактики заражения ВИЧ-инфекцией;
- профилактики нежелательной беременности у ВИЧ-позитивных женщин;
- профилактики вертикальной передачи ВИЧ-инфекции плоду и новорожденному: во время беременности, в родах и в послеродовом периоде.

В большинстве случаев профилактические мероприятия на доклиническом этапе не проводятся или несостоятельны. В настоящее время происходит «феминизация процесса», вследствие активизации гетеросексуального пути передачи. В 90% случаев инфицируются женщины репродуктивно-

го возраста, увеличивается число лиц с продвинутой стадией ВИЧ-инфекции.

Важное значение имеют репродуктивные планы женщин, живущих с ВИЧ-инфекцией. В России показатель выявляемости ВИЧ-инфекции среди беременных женщин в 2002 г. увеличился, по сравнению с 1998 г., в 22 раза, а по сравнению с 1995 г. — в 573 раза [1,2]. Распространенность ВИЧ-инфекции среди беременных женщин в настоящее время составляет 0,1% [2]. В прогностическом плане для женщины и для её будущего ребенка существенное значение имеет выявление экспрессии антигена вируса иммунодефицита человека в цервикальной слизи, однако в современной литературе данных по этому вопросу нет.

Цель исследования: изучить активность инфек-

ционного процесса и экспрессию антигена ВИЧ в цервикальной слизи у беременных женщин на разных сроках гестации.

Материалы и методы

Проведено клиническое наблюдение 80 ВИЧ-инфицированных беременных, составивших 2 группы: I группа — 10 беременных с изолированной ВИЧ — инфекцией (контроль); II группа — 70 ВИЧ-инфицированных беременных с микст-инфекцией. Средний возраст всех обследованных женщин составил $24,0 \pm 4,31$ лет. Женщины в большинстве случаев имели в анамнезе 2 и более беременностей — $2,5 \pm 1,4$ на каждую женщину, из них родов было $0,4 \pm 0,06$, аборт — $1,04 \pm 0,37$ на каждую женщину.

Гинекологический анамнез обследованных женщин был отягощен, на каждую из них приходилось 0,88 гинекологических заболеваний, преимущественно воспалительного генеза.

Анализ течения беременности на фоне ВИЧ-инфекции показал, что у 55 (68,8%) женщин диагностированы осложнения на разных этапах гестации. Частота встречаемости угрозы прерывания беременности, токсикоза, анемии, гестоза, многоводия, фетоплацентарной недостаточности значимо не различалась в обеих подгруппах.

38 женщин (47,5%) приняли решение пролонгировать беременность, у 3 женщин (3,8%) произошло самопроизвольное прерывание беременности, в то время как 39 женщин сознательно решили прервать настоящую беременность (из них более половины прерываний произведено в сроках от 20 до 24 недель беременности по медицинским показаниям).

Артифициальные аборт в первом триместре составили 22,5%, в 3,8% случаев произошло самопроизвольное прерывание беременности с последующим инструментальным опорожнением полости матки, прерывание во втором триместре проведено 26,3% женщин путем проведения интраамниального введения гипертонического раствора.

При сохранении беременности женщинам назначалась профилактика вертикальной передачи ВИЧ — инфекции.

Эпидемиологический анамнез беременных свидетельствует о том, что 100,0% женщин второй группы инфицированы половым путем, в первой группе 10 (14,3%) женщин заразились при употреблении внутривенных наркотических препаратов, 60 женщин (85,7%) инфицированы при половых контактах.

В клиническом течении стадии ВИЧ-инфекции определялись по классификации В.И. Покровского (2001г.). Клеточный иммунитет оценивали по показателям в крови количества лейкоцитов и лимфоцитов, Т-лимфоцитов Т — супрессоров/киллеров (CD8) и Т-хелперов/индукторов (CD4), общей популяции Т-лимфоцитов (CD3). Вычисляли иммунорегуляторный индекс (ИРИ) — отношение CD4/CD8.

Показатели уровня Т-лимфоцитов считали измененными у тех больных, у которых количество CD3 — лимфоцитов составило 60% и/или 1100 и ниже в 1 мкл крови, CD4 — 39% и/или 600 и ниже в 1 мкл крови, CD8 — выше 35% и/или 350. Иммунорегуляторный индекс был при этом мень-

ше 1,5. Для выявления экспрессии антигена вируса иммунодефицита человека в цервикальной слизи проведены исследования на стандартном оборудовании для клиничко-диагностических лабораторий, с использованием антител к вирусу иммунодефицита человека, система детекции (производство Novocastra), № госрегистрации 3113И/2262 от 29.09.2003; антитела к цитокинам определены на оборудовании фирмы «Phar Mingen» — № госрегистрации 31-13И1919 от 07.07.2005. Выявление продукта иммуногистохимической окраски (антигена) проводили с помощью светового микроскопа. Критерием оценки служила интенсивность окраски (светло — или темно — коричневая), размеры гранул (крупные или мелкие), их локализация (в цитоплазме или в ядре), количество гранул в одном лимфоците, наличие полинуклеарной экспрессии в агломератах лимфоцитов. При этом оценивались мазки, содержащие не менее 100 — клеток в одном поле зрения. Проводилась полуколичественная оценка экспрессии искомых антигенов в (+). Результат реакции считался положительным при наличии более 5% клеток, содержащих гранулы (антиген). Резко положительным (++++) считался результат при наличии перинуклеарной экспрессии антигена в конгломератах лимфоцитов, положительным (++) — при наличии темно — коричневых крупных гранул от 6 до 15, расположенных в ядре и цитоплазме в 1 клетке, слабо положительным — при наличии 5-6 светло — коричневых гранул в 1 клетке, расположенных в цитоплазме. Отрицательной считается реакция при отсутствии всех перечисленных компонентов экспрессии антигена. Статистическая обработка включала расчет ранговой корреляции. Значимыми считались значения $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На момент исследования в выборке преобладали женщины с ВИЧ — инфекцией, находящейся в латентной стадии — 61 беременная (76,3%). В стадии первичных проявлений находились 10 женщин (12,5%): от бессимптомного течения (2А) до острой ВИЧ — инфекции (2Б-2В), статус 9 женщин (11,2%) соответствовал стадиям 4А, 4Б, 4В (вторичные проявления).

Заражение женщин вирусом иммунодефицита произошло от нескольких месяцев назад с момента осмотра (стадия первичных проявлений) до нескольких лет (до 10-12 лет — стадия 4В). В среднем проходит 7-10 лет между первичной инфекцией и значительным истощением популяции CD4 клеток [3].

В подгруппе с изолированной ВИЧ — инфекцией диагностированы стадии первичных проявлений и латентная; во второй подгруппе преобладали женщины с латентной стадией ВИЧ — инфекции и стадией вторичных заболеваний.

Клиническими маркерами ВИЧ являлись генерализованная лимфоаденопатия, вторичные заболевания бактериального и вирусного генеза. Практически у всех — 76 женщин (95,0%), инфицированных ВИЧ, увеличены паховые лимфатические узлы. У 61 женщины (64,6%) имеется увеличение подмышечных лимфатических узлов. Увеличение лимфоузлов в других группах (заднешейные, подчелюстные, околоушные, затылочные,

надключичные, подключичные) встречалось практически одинаково часто: от 38,8% до 54,9%.

Среди вторичных заболеваний преобладают кандидоз ЖКТ и кандидоз слизистой оболочки влагалища 16,1%, встречается пневмония бактериального генеза в 14,3%, диагностированы туберкулез легких — 3,6%, туберкулезный менингит — 1,8%.

Среди вирусных ко-инфекций велика доля гепатита С (42,5%), остроконечные кондиломы выявлены в 16,1% случаев, простой герпес — 12,5%. Показатели ИА (индекса авидности) указывали на активность вирусного процесса. В первой группе преимущественно выявлялась персистенция вирусов. При отсутствии жалоб у обследованных женщин, характерных для хронического гепатита у 38,8% женщин с HCV-инфекцией были выявлены клинические проявления в виде гепатомегалии и внепеченочных знаков (телеангиоэктазии, сосудистые звездочки). При ультразвуковом исследовании печени были обнаружены умеренные диффузные изменения печени (25,4%). Повышение активности трансаминаз и билирубина отмечалось у 6,1% женщин второй группы.

Урогенитальная инфекция во второй группе представлена неспецифической, специфической флорой и ассоциациями микроорганизмов, в том числе ИППП.

Химиопрофилактику во время беременности получили 31 (38,75%) женщины. Монотерапия назначена 28 (90,3%) женщинам, ВААРТ — 3 (9,7%) женщинам.

Второй этап химиопрофилактики получили 100% женщин поступивших на родоразрешение.

Срочные роды в группе ВИЧ-инфицированных беременных составили 91,4%, преждевременные роды на 34-36 неделях беременности произошли у 4 (8,6%) женщин. Оперативным путем родоразрешены 5 (8,6%) женщин, показанием к кесареву сечению явились рубец на матке, первичная слабость родовых сил и только у 1 (1,7%) женщины прогрессирующая внутриутробная гипоксия плода.

Частота и спектр осложнений в родах были не столь велики, в среднем на каждую женщину второй группы приходилось 0,4 осложнения. Преждевременное отхождение околоплодных вод отмечено в 18,9% случаев, преимущественно за счет числа случаев у ВИЧ-инфицированных женщин второй подгруппы, многоводие в родах — у 2 (2,5%) женщин, аномалии родовой деятельности, в основном слабость, диагностированы в 12,1%.

При оценке новорожденных, рожденных ВИЧ-позитивными женщинами, по шкале Апгар у 39,6% состояние оценивалось на 8-10 баллов. В состоянии легкой асфиксии родились 35% детей, из них 10,7% — недоношенные, в асфиксии средней степени тяжести — 24,2%, из них 13,4% недоношенные, в тяжелой асфиксии родились 6,9% новорожденных, из них 25% — недоношенные.

Профилактика инфицирования новорожденного в постнатальном периоде проведена 100% новорожденных, включала исключение естественного вскармливания, жидкие пероральные формы противовирусных препаратов — зидовудина и невирапина.

Все дети, рожденные от ВИЧ-инфицированных женщин, состоят на диспансерном учете.

Активность вирусного процесса оценивалась по величине вирусной нагрузки (у детей), степени иммуносупрессии (уровень CD4). Анализ иммунограмм ВИЧ-инфицированных беременных женщин, в большинстве случаев, не выявил выраженных изменений показателей клеточного звена иммунной системы. На стадии острой инфекции (2Б) система иммунитета у 2/3 пациентов находится в состоянии неустойчивой компенсации, у 1/3 — в состоянии декомпенсации.

Снижение числа Т-хелперов/индукторов (CD4+ — лимфоцитов) в среднем составило 570 ± 220 кл/мм³. Уменьшение количества CD4 — клеток менее 350 в мм³ зафиксировано у 4 женщин второй группы (5,0%). Глубокая иммуносупрессия с уровнем CD4 — лимфоцитов 69 кл/мм³ зафиксирована у одной беременной второй группы (1,3%). Динамика развития дефицита CD4 — клеток прямо коррелирует с клиническим прогрессированием заболевания, в частности с анемией. Выявлена прямая зависимость между уровнем CD4 и Hb ($r=0,283$ $p=0,017$).

Несмотря на иммунный ответ, вирусная репликация продолжается в различной степени во время разных фаз ВИЧ-инфекции [3]. Во время острой фазы инфекции происходит ускорение вирусной репликации посредством активированных инфицированных CD4 лимфоцитов, которая контролируется иммунным ответом, особенно CD8 лимфоцитами [3].

Соотношение CD4 / CD8 составило $0,80 \pm 0,47$: в группе с изолированной ВИЧ-инфекцией $1,01 \pm 0,55$ (что соответствует норме), во второй группе $0,78 \pm 0,46$.

Вследствие истощения CD4 ухудшаются оба Th1 и Th2 CD4 ответа. Уменьшение Th2 предотвращает активацию В-клеток и в результате этого переключение ответа иммуноглобулина от IgM (медиатор острых инфекций) к IgG (медиатор хронических инфекций) будет снижаться.

Таким образом, возникает состояние относительного гуморального иммунодефицита с восприимчивостью к таким микроорганизмам, как стафилококки или стрептококки, особенно в хронической стадии инфекции [3].

Для оценки распространения вируса иммунодефицита человека и вероятности интранатального заражения плода нами проведено определение экспрессии антигена ВИЧ в цервикальной слизи 35 беременным на разных этапах гестации. В 91,4% случаев обнаружен антиген вируса иммунодефицита, в 8,6% получен сомнительный результат (+/-). Следует отметить отсутствие корреляции между степенью выраженности изменений в иммунной системе (стадий ВИЧ-инфекции) и экспрессией антигена вируса. Резко положительный результат (+++) получен у 6 (17,1%) женщин второй группы с ВИЧ-инфекцией, находящейся в 3 стадии.

У беременных, находящихся в 4 стадии, напротив, выраженность критериев иммуногистохимии соответствовала «+», что вероятно связано с действием ВААРТ, назначенной по показаниям со стороны женщины.

Таким образом, современные проявления эпидемиологического процесса ВИЧ-инфекции характеризуются изменением возрастного состава больных, структуры путей передачи, увеличением числа лиц женского пола репродуктивного возраста.

та, увеличением числа родов у данного контингента женщин, увеличением числа сочетанных инфекций (HCV, ВПГ, ВПЧ и тд.). На всех этапах течения ВИЧ-инфекции у беременных женщин выявляется дисбаланс иммунной системы, проявляющийся дефицитом Т-лимфоцитов и их субпопуляций. Отмечается прямая корреляция снижения CD4 с клиническим прогрессированием заболевания. Использование метода иммуноцитохимии и выявление антигена ВИЧ в цервикальной слизи у всех обследуемых женщин свидетельствует о высоком риске интранатального инфицирования плода при

ведении родов через естественные родовые пути. Учитывая тот факт, что степень выраженности экспрессии антигена ВИЧ не соответствует маркеру активности вирусного процесса — величине иммуносупрессии (уровню CD4), необходимо рекомендовать данную методику для практического здравоохранения, как показатель степени риска интранатального инфицирования плода. Выбор тактики родоразрешения ВИЧ-инфицированных женщин должен базироваться на количественной оценке перинуклеарной экспрессии антигена ВИЧ в лимфоцитах цервикальной слизи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Городничева Ж.А., Савельева И.С. Репродуктивное поведение ВИЧ-инфицированных женщин. // Акушерство и гинекология. — 2005. — №6. — С. 61-63.
2. Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю., Сильц В.В. и др. Значение лабораторных маркеров активной репликации цитомегаловируса у ВИЧ — инфицированных

беременных женщин при оценке риска врожденной и внутриутробной ЦМВ-инфекции. // Акушерство и гинекология. — 2005. — №2. — С. 24-29.

3. De Martino M., Rossi M., Azzari C., et al. IL-6 synthesis and IgE overproduction in children with perinatal human immunodeficiency virus type 1 infection. // Ann. Allergy Asthma Immunol. — 1999. — Vol. 82. — P. 212-216.

Адрес для переписки: Иглина М.А. УлГУ, ИМЭиФК, кафедра акушерства и гинекологии, ст. преподаватель. Контактные телефоны: (8422) 32-00-14 рабочий, (8422) 97-31-63 мобильный. e-mail: marinaiglina@mail.ru

© ЛЕВАНОВ Л.Н., МАТВЕЕВ Л.Э., ЮН Т.Э., ЛЕБЕДЕВ Л.Р., ШВАЛОВ А.Н., БАЙКОВ И.К., МАТВЕЕВА В.А., РИХТЕР В.А., ТИКУНОВА Н.В. — 2008

ОДНОЦЕПОЧНОЕ АНТИТЕЛО ПРОТИВ ГЛИКОПРОТЕИНА Е ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Л. Н. Леванов, Л. Э. Матвеев, Т. Э. Юн, Л. Р. Лебедев, А. Н. Швалов, И. К. Байков,
В. А. Матвеева, В. А. Рихтер, Н. В. Тикунова

(ФГУН Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», Новосибирская область, п. Кольцово; Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск; Новосибирский государственный университет)

Резюме. На основе кДНК-фрагментов генов, кодирующих переменные домены тяжелой и легкой цепей моноклонального антитела (МКА) против гликопротеина Е вируса клещевого энцефалита (КЭ), сконструирована рекомбинантная плазмидная ДНК pSC10C2. Эта плазида обеспечивала экспрессию одноцепочечного антитела sc10C2 против вируса КЭ в клетках *Escherichia coli*. Продуцируемое антитело связывало вирус КЭ, штамм 205, и рекомбинантный белок Е вируса КЭ. Константа аффинности очищенного sc10C2 составила $(1,2 \pm 0,3) \times 10^7 \text{ M}^{-1}$.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, одноцепочечное антитело против гликопротеина Е.

SCFV-ANTIBODY AGAINST GLYCOPROTEIN E OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS

L. N. Levantov, L. E. Matveev, T. E. Yun, L. R. Lebedev, A. N. Shvalov, I. K. Baykov, V. A. Matveeva,
V. A. Richter, N. V. Tikunova

(Federal State Research Institution State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Novosibirsk region Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk Novosibirsk State University, Russia)

Summary. The recombinant plasmid DNA pSC10C2 was constructed on the basis of cDNA fragments of the genes encoding variable domains of the heavy and light chains of MAb against glycoprotein E of Tick-Borne encephalitis virus (TBEV). This plasmid provided an expression of scFv-antibody sc10C2 against TBEV in *Escherichia coli* cells. The produced antibody was able to bind TBEV, strain 205, and recombinant protein E of TBEV. Affinity of purified sc10C2 was $(1,2 \pm 0,3) \times 10^7 \text{ M}^{-1}$.

Key words: tick-borne encephalitis virus, scFv-antibody against glycoprotein E.

Клещевой энцефалит (КЭ) — острое природно-очаговое инфекционное заболевание нервной системы, передающееся иксодовыми клещами. Возбудителем заболевания является вирус КЭ, представитель семейства Flaviviridae. Современная эпидемическая ситуация в отношении КЭ характеризуется значительным ростом заболеваемости [1, 2]. Эта закономерность характерна не только для России, где регистрируется большая часть случаев заболеваний, но и для многих европейских стран. В РФ за последние годы заболеваемость КЭ возросла в девять раз и достигла 11 000 случаев в год [1]. В настоящее время единственным специфическим средством лечения этого заболевания является гамма-глобулин против вируса КЭ, получаемый из крови им-

мунизированных людей. Высокая стоимость данного препарата и возможный биологический риск при его применении делают необходимым поиск альтернативных терапевтических средств. В качестве альтернативы гамма-глобулину могли бы использоваться моноклональные антитела человека, однако, к настоящему времени МКА человека, специфически направленные к вирусу КЭ, отсутствуют.

В последние годы внимание исследователей привлекают рекомбинантные антитела, которые можно получать в апробированных экспрессионных системах в больших количествах в отличие от иммуноглобулинов, получаемых при иммунизации животных и человека. Среди них большой интерес представляют, в частности,