

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Дальневосточный федеральный университет  
Школа биомедицины

Министерство здравоохранения Российской Федерации  
Тихоокеанский государственный медицинский университет  
Кафедра инфекционных болезней  
Кафедра нормальной и патологической физиологии

# **ВИЧ-ИНФЕКЦИЯ: ИММУНОГЕНЕЗ, ДИАГНОСТИКА, ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА**

Учебное пособие

*Составители:*

Л.Ф. Скляр, С.Н. Бениова,  
Е.В. Маркелова, Н.А. Боровская, В.С. Елисеева

Владивосток



2017

УДК 616-097-022:578-07-08(075.8)

ББК 55.14

В54

*Печатается по решению УМС Школы биомедицины ДВФУ.  
Работа поддержана Дальневосточным федеральным  
университетом (проект «Глобальное здравоохранение  
в социокультурном ландшафте  
Азиатско-Тихоокеанского региона»).*

*Рецензенты:*

Е.П. Тихонова, заведующая кафедрой инфекционных болезней  
ФГБОУ ВО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого»

Минздрава России, д-р мед. наук, профессор;

Г.С. Томилка, заведующий кафедрой инфекционных болезней  
и эпидемиологии ФГБОУ ВО «ДВГМУ» Минздрава России,  
д-р мед. наук, профессор

**ВИЧ-инфекция: иммуногенез, диагностика, лечение и**  
В54 **профилактика** : учебное пособие / сост.: Л.Ф. Скляр, С.Н. Бе-  
ниова, Е.В. Маркелова, Н.А. Боровская, В.С. Елисеева. – Вла-  
дивосток : Изд-во Дальневост. федерал. ун-та, 2017. – 96 с.  
ISBN 978-5-7444-4112-8.

В пособии по дисциплине «Инфекционные болезни» приведен курс лекций, а также проверочные тесты, ситуационные задачи и контрольные вопросы по разделам дисциплины.

Предназначено для студентов направления подготовки 31.05.01 «Лечебное дело» (уровень специалитета).

УДК 616-097-022:578-07-08(075.8)

ББК 55.14

ISBN 978-5-7444-4112-8

© ФГАОУ ВО «ДВФУ», 2017

## Содержание

Введение .....	4
<b>Глава 1. Иммуногенез ВИЧ-инфекции .....</b>	<b>7</b>
1.1. Общие вопросы патофизиологии ВИЧ .....	7
1.2. Иммунологические события на ранних этапах ВИЧ-инфекции ....	15
1.3. Нарушения клеточного иммунитета при ВИЧ-инфекции .....	18
1.4. Изменения цитокиновой регуляции при ВИЧ-инфекции .....	30
<b>Глава 2. Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции .....</b>	<b>40</b>
2.1. Принципы лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции .....	40
2.2. Диагностические тесты .....	43
2.3. Алгоритм лабораторного мониторинга пациентов с ВИЧ-инфекцией.....	<b>Ошибка! Закладка не определена.</b>
<b>Глава 3. Основные принципы лечения ВИЧ-инфекции.....</b>	<b>58</b>
<b>Глава 4. Профилактика ВИЧ-инфекции.....</b>	<b>66</b>
Тестовые задания.....	78
Ситуационные задачи .....	87
Нормативные документы.....	90
Список литературы .....	91

## Введение

Проблема ВИЧ-инфекции в мире обусловлена её повсеместным распространением среди всех социальных слоев населения, в различных возрастных и этнических группах. Серьезность ситуации такова, что ежегодно в третье воскресенье мая принято вспоминать людей, умерших от СПИДа, для того, чтобы привлечь внимание мировой общественности к проблемам больных ВИЧ-инфекцией и распространению этого заболевания.

Согласно статистике Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ВИЧ остается одной из основных проблем глобального общественного здравоохранения и на сегодняшний день он унес более 35 млн человеческих жизней. В 2016 г. от причин, связанных с ВИЧ, во всем мире умерло 1 млн человек. На конец 2016 г. в мире насчитывалось примерно 36,7 млн человек с ВИЧ-инфекцией, а 1,8 млн человек приобрели ВИЧ-инфекцию в 2016 г.

Россия – одна из стран, где число новых случаев заболевания и смертность от ВИЧ-инфекции продолжают возрастать. По предварительным данным по состоянию на 31 декабря 2016 г. общее число зарегистрированных случаев ВИЧ-инфекции среди граждан Российской Федерации достигло 1 114 815 человек. Из них умерло по разным причинам 243 863 ВИЧ-инфицированных (по данным формы мониторинга Роспотребнадзора «Сведения о мероприятиях по профилактике ВИЧ-инфекции, гепатитов В и С, выявлению и лечению больных ВИЧ»). В декабре 2016 г. 870 952 россиян, жили с диагнозом: «ВИЧ-инфекция».

В 2016 г. территориальными центрами по профилактике и борьбе со СПИД было сообщено о 103 438 новых случаях ВИЧ-инфекции среди граждан Российской Федерации, исключая выявленных анонимно и иностранных граждан, что на 5,3% больше, чем в 2015 г. С 2005 г. в стране регистрируется рост количества новых выявленных случаев инфицирования ВИЧ, в 2011-2016 гг. ежегодный прирост составлял в среднем 10%. Показатель заболеваемости в 2016 г. составил 70,6 на 100 тыс. населения. Наиболее существенный рост заболеваемости в 2016 г. наблюдался в Республике Крым, Карачаево-Черкес-

ской Республике, Чукотском АО, Камчатском крае, Белгородкой, Ярославской, Архангельской областях, г. Севастополь, Чувашской, Кабардино-Балкарской Республиках, Ставропольском крае, Астраханской области, Ненецком АО, Самарской области и Еврейской АО. Пораженность ВИЧ-инфекцией на 31 декабря 2016 г. составила 594,3 на 100 тыс. населения России. Случаи ВИЧ-инфекции зарегистрированы во всех субъектах Российской Федерации. Высокая пораженность ВИЧ-инфекцией (более 0,5% от всей популяции) зарегистрирована в 30 наиболее крупных и преимущественно экономически успешных регионах, где проживает 45,3% населения страны.

В 2016 г. существенно выросла роль полового пути передачи ВИЧ-инфекции. По предварительным данным, среди впервые выявленных в 2016г. ВИЧ-позитивных с установленными факторами риска заражения 48,8% инфицировались при употреблении наркотиков нестерильным инструментарием, 48,7% — при гетеросексуальных контактах, 1,5% — при гомосексуальных контактах, 0,45 % составляли дети, инфицированные от матерей во время беременности, родов и при грудном вскармливании. Растет количество детей, зараженных при грудном вскармливании: в 2016 г. было зарегистрировано 59 таких детей, 2015 г. — 47, 2014 г. — 41 ребенок. В 2016 г. зарегистрировано 16 случаев с подозрением на заражение в медицинских организациях при использовании нестерильного медицинского инструментария и 3 случая — при переливании компонентов крови от доноров реципиентам. Еще 4 новых случая ВИЧ-инфекции у детей, вероятно, были связаны с оказанием медицинской помощи в странах СНГ.

Такая эпидемическая картина ведет к значительным человеческим и экономическим потерям, что делает ВИЧ-инфекцию важнейшей медицинской и социальной проблемой.

Тем не менее в настоящее время ВИЧ-инфекция стала управляемым процессом, превратившись из быстротекущего процесса в длительное хроническое заболевание. Благодаря внедрению высокоактивной антиретровирусной терапии (ВААРТ) появилась возможность отдалить терминальную стадию ВИЧ-инфекции на достаточно длительное время, улучшить качество жизни пациентов и увеличить ее продолжительность. Современная терапия позволяет добиваться

стойких вирусологического, иммунологического и клинического эффектов. Достижения медицинской науки в области диагностики значительно расширили представления об иммунопатогенезе ВИЧ-инфекции, позволили внедрить новые методы контроля за её развитием и способы динамического наблюдения за пациентами. Все вышеизложенное свидетельствует о необходимости информирования врачей различных специальностей, как работающих в области ВИЧ-медицины, так и сталкивающихся с этой инфекцией лишь периодически, о новых взглядах на патогенез ВИЧ-инфекции и тенденциях в области диагностики, наблюдения и лечения этого тяжелого заболевания.

# Глава 1. Иммуногенез ВИЧ-инфекции

## 1.1. Общие вопросы патофизиологии ВИЧ

Благодаря многочисленным исследованиям природы ВИЧ наши знания о влиянии вируса на иммунную систему, особенностях взаимодействия между ним и организмом человека постоянно расширяются. Ответы на одни вопросы ставят перед учеными и исследователями вопросы новые, формируя фундамент для разработки вакцин и лекарственных препаратов следующего поколения. Понимание механизмов иммунопатогенеза ВИЧ-инфекции на клеточном и молекулярном уровнях не только лежит в основе теоретических построений, но и напрямую определяет тактику динамического наблюдения, диагностических исследований и лечения пациентов.

ВИЧ является облигатным паразитом, для размножения которого необходимы восприимчивые клетки (рис. 1). Проникновение вируса в клетки осуществляется благодаря связыванию вирусного белка оболочки gp120 с CD4+-рецептором, который обнаруживается на весьма большом количестве клеток организма человека. В первую очередь это клетки гемopoэтического ряда – Т- и В-лимфоциты, моноциты, макрофаги, НК-клетки. Мишенью для ВИЧ также служат клетки центральной нервной системы (микроглия, астроциты, клетки капиллярного эндотелия), дендритные клетки слизистых оболочек, клетки кишечного эпителия, купферовские клетки печени. Размножение вируса в разных компартментах приводит к формированию генетически различных вариантов вируса и повышает его разнообразие, что позволяет успешно сопротивляться влиянию иммунной системы и действию лекарственных препаратов.

Для эффективного проникновения в клетку необходимо дополнительное связывание ВИЧ с хемокиновыми корецепторами – CCR5 и CXCR4 (рис. 2). В экспериментах было установлено, что отсутствие корецепторов на поверхности клеток не предохраняет их от заражения, но делает невозможным последующее размножение вируса в клетке. Корецептор CCR5 представлен на моноцитах и макрофагах,

активированных Т-лимфоцитах, клетках памяти. Корцептор CXCR4 обнаруживается на поверхности наивных Т-лимфоцитов, первичных тимоцитов. При этом в вирусной популяции содержатся варианты, тропные как к CCR5, так и к CXCR4.

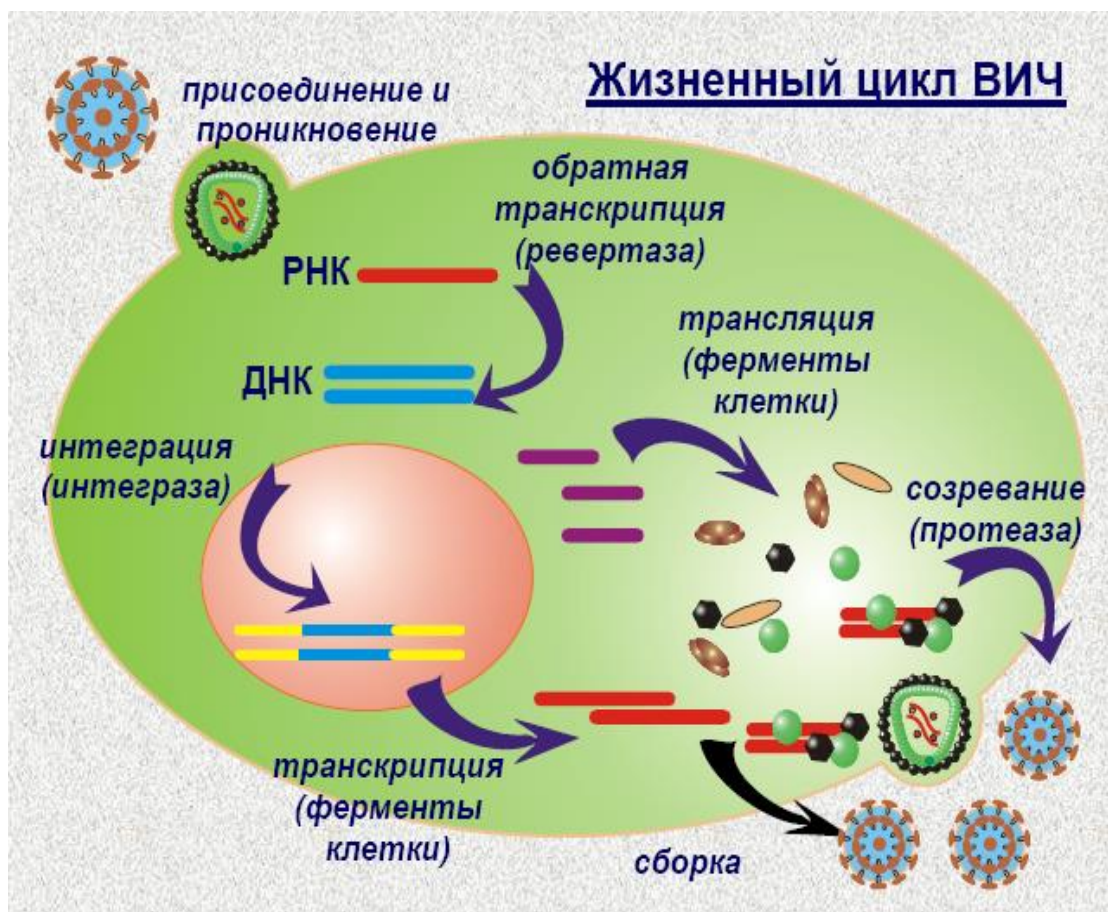


Рис. 1. Схема жизненного цикла ВИЧ-1  
(Бобкова, 2014)

Варианты вируса, тропные к CCR5 корцептору, обнаруживаются на всех стадиях инфекции, но преобладают на ранних этапах инфицирования. Они характеризуются низкой скоростью размножения и сравнительно малой продукцией вируса. Варианты, тропные к CXCR4 корцептору, обнаруживаются в большом количестве на поздних стадиях инфицирования и имеют высокую скорость размножения и продукции вируса. Они вызывают ускоренную потерю CD4+ Т-лимфоцитов и ухудшают прогноз заболевания. Считается, что ВИЧ обладает потенциально двойной тропностью, при этом фенотип зависит от условий существования вируса. В ходе развития инфекции



происходит смена доминирующего фенотипа. Этот момент приблизительно совпадает с началом ускоренного снижения количества CD4+Т-лимфоцитов и развития стадии СПИДа.

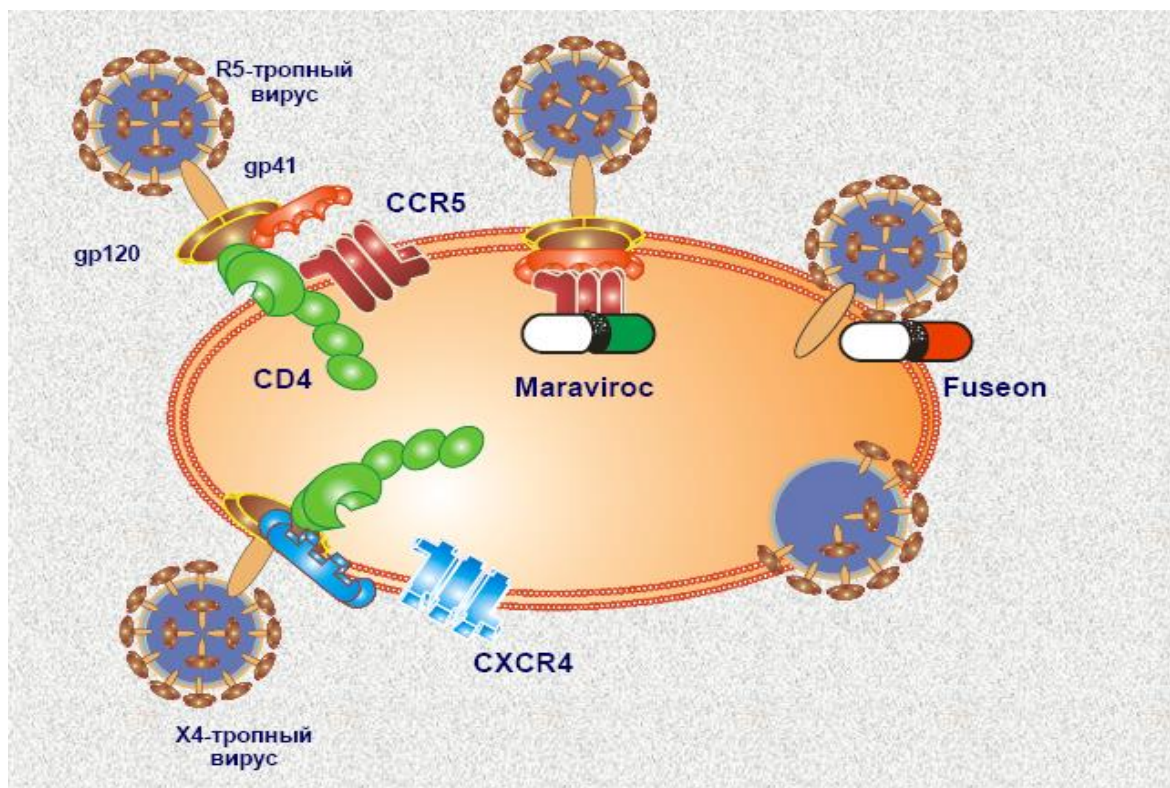


Рис. 2. Влияние антиретровирусных препаратов маравирока и фузеона на хемокиновые корцепторы (Бобкова, 2014)

Центральным патогенетическим звеном ВИЧ-инфекции является хроническая генерализованная активация иммунной системы, которая выражается в увеличении числа активированных клеток (NK-клетки, лимфоциты) и повышении уровня провоспалительных цитокинов и хемокинов. Степень иммунной активации коррелирует с уровнем вирусной нагрузки (ВН) ВИЧ, то есть с количеством вирусных частиц в плазме крови, и со стадией заболевания.

Постоянная репликация ВИЧ стимулирует пролиферацию CD4+ и CD8+Т-лимфоцитов с образованием эффекторных клеток, которые являются хорошей мишенью для вируса вследствие того, что имеют высокую степень экспрессии хемокиновых корцепторов (рис. 3). Их уровень в свою очередь определяется участием лимфоцита в презентации

антигенов: чем выше степень активности Т-лимфоцита, тем больше на его поверхности экспрессируются молекулы корецептора. Эффектор-ные лимфоциты продуцируют широкий набор цитокинов, которые вы-зывают индукцию внутриклеточного фактора транскрипции NF-AT – активатора синтеза внутриклеточных белков, в том числе и вирусных. Увеличение репликации приводит к прогрессивному заражению новых клеток, повышению числа активированных клеток и, следовательно, к увеличению числа мишеней для дальнейшего инфицирования.

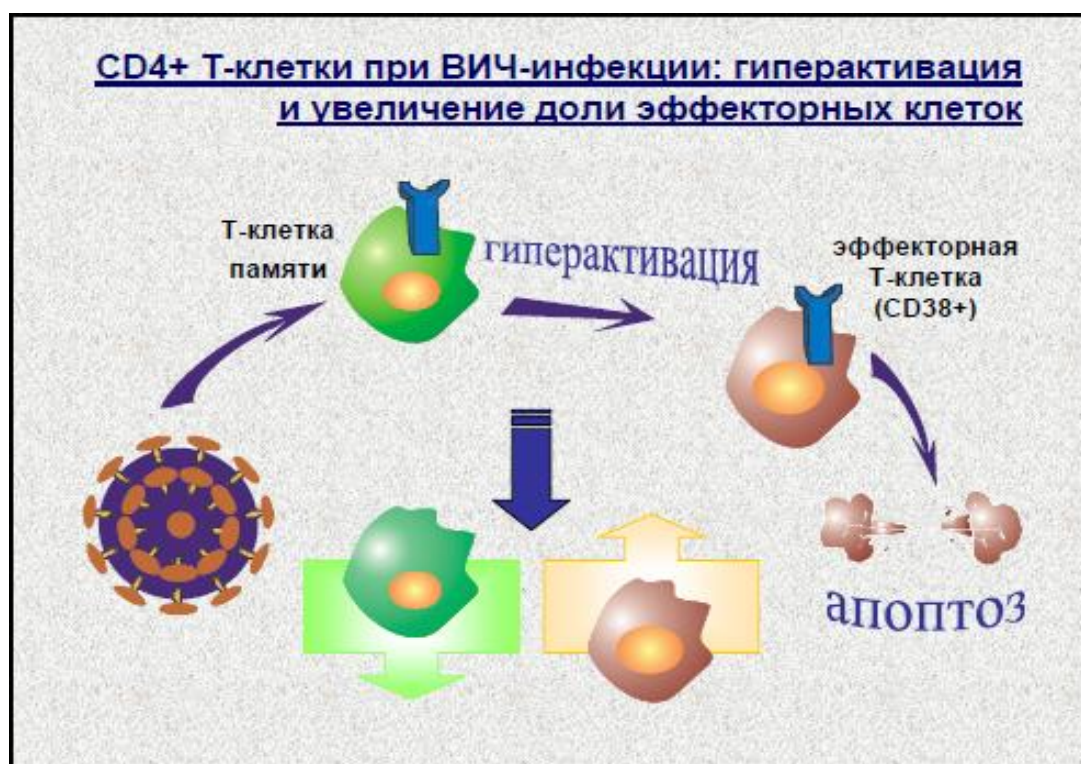


Рис. 3. Рост числа эффекторных клеток при ВИЧ-инфекции (Бобкова, 2014)

Специфическое лечение ВИЧ-инфекции направлено на блокиро-вание вирусной репликации и тем самым на уменьшение и прекраще-ние заражения интактных клеток. Однако даже при вирусологиче-ском и иммунологическом успехе проводимой терапии степень им-мунной активации никогда не приходит к предшествующей норме. С одной стороны, это можно объяснить формированием «порочного» круга инфицирования активированных клеток: увеличение количе-ства вирионов в результате репликации в чувствительных клетках уве-личивает количество активированных клеток, а это приводит к созда-

нию благоприятной основы для последующего размножения ВИЧ. Этот процесс сопровождается гибелью большого количества иммунных и неиммунных клеток, которая компенсируется выработкой новых ВИЧ-чувствительных клеток, так называемых мишеней, для их дальнейшего инфицирования. С другой стороны, в результате активации частично восстанавливаются функции иммунной системы и способность сопротивляться инфекциям, но по мере истощения возможностей клеточного иммунитета эта способность прогрессивно снижается.

Следует подчеркнуть, что в настоящее время феномен ВИЧ-ассоциированной иммунной активации дополнительно поддерживается теорией микробной транслокации. Согласно этой модели, потеря CD4+T-лимфоцитов приводит к нарушению барьерной функции и местного иммунитета слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, что в свою очередь ведет к перемещению микробных антигенов и эндотоксинов в кровотоки. Они оказывают постоянное стимулирующее влияние на иммунную систему. Наблюдается генерализованная неспецифическая поликлональная иммунная активация, усиливающая иммунодефицит. Следствием как специфической, так и неспецифической активации является глубокое повреждение всех звеньев и уровней иммунной системы, в том числе деструкция лимфоузлов, дисфункция тимуса, истощение пула клеток памяти.

Отличительной особенностью ВИЧ-инфекции является формирование пула латентно инфицированных клеток, при этом основным резервуаром являются CD4+T-лимфоциты памяти. Другие восприимчивые клетки также могут быть латентно инфицированы – макрофаги, дендритные клетки, клетки микроглии и т. п. От других вирусов, в частности вирусов группы герпеса, ВИЧ отличается тем, что не вся вирусная популяция находится в латентном состоянии, а лишь ее некоторая часть. Такое обратимое непродуктивное состояние, при котором часть вирусной популяции находится в клетках, надежно защищает вирус от воздействия лекарственных препаратов и влияния иммунной системы. По мере образования и репликации новых вариантов ВИЧ они также сохраняются в клеточных резервуарах, пополняя собой генетическое разнообразие вариантов вируса. Период полуж-

изни CD4+T-лимфоцитов памяти очень длительный и составляет в среднем 44 месяца. При этом клетки способны к делению, а значит и к передаче вирусного генетического материала новым клеткам наравне с собственными. Полное освобождение организма от инфекции невозможно еще и потому, что лекарственные препараты антиретровирусной терапии воздействуют на вирионы в реактивированных клетках, но не в латентно инфицированных.

ВИЧ существует в клетках в виде двух форм латентности – преинтеграционной и постинтеграционной (рис. 4). В первом случае после проникновения вируса в неактивированные клетки процесс обратной транскрипции остается незавершенным. Интеграции провируса в хозяйскую хромосому не происходит. Основная часть ДНК ВИЧ, находящаяся в покоящихся клетках, находится именно в состоянии преинтеграционной латентности. Причины незавершения процесса обратной транскрипции не ясны. Существующие гипотезы связывают это явление с недостатком источников энергии (АТФ) в покоящихся клетках, необходимых для встраивания крупного преинтеграционного комплекса в клеточное ядро. Возможно, что свое влияние оказывает и недостаток нуклеотидных предшественников в покоящихся клетках.

Это состояние характеризуется нестабильностью и легко прерывается: под действием клеточных нуклеаз вирусная кДНК легко разрушается. Незначительное количество вирусных белков и молекул в покоящихся зараженных клетках все же образуется, однако их количества недостаточно для продукции вирусных частиц. Тем не менее кДНК сохраняет способность к интеграции в хромосому. Если же клетка выходит из состояния латентности, то цикл репликации вируса продолжается.

Во втором случае реакция обратной транскрипции завершается успешно и вирус встраивается в геном клетки-хозяина. Это происходит в активированных Т-клетках, близких к состоянию покоя. В этот момент они восприимчивы к заражению, но экспрессия вирусного генома в них не происходит. Постинтеграционный комплекс представляет собой чрезвычайно стабильную структуру. Такие латентно инфицированные клетки не экспрессируют белки ВИЧ и поэтому не



распознаются цитотоксическими клетками. Они способны к делению вместе с провирусом или же к реактивации под действием антигенов или цитокинов. Необходимо отметить, что смена состояния клетки на активное приводит к экспрессии и клеточных, и вирусных белков.

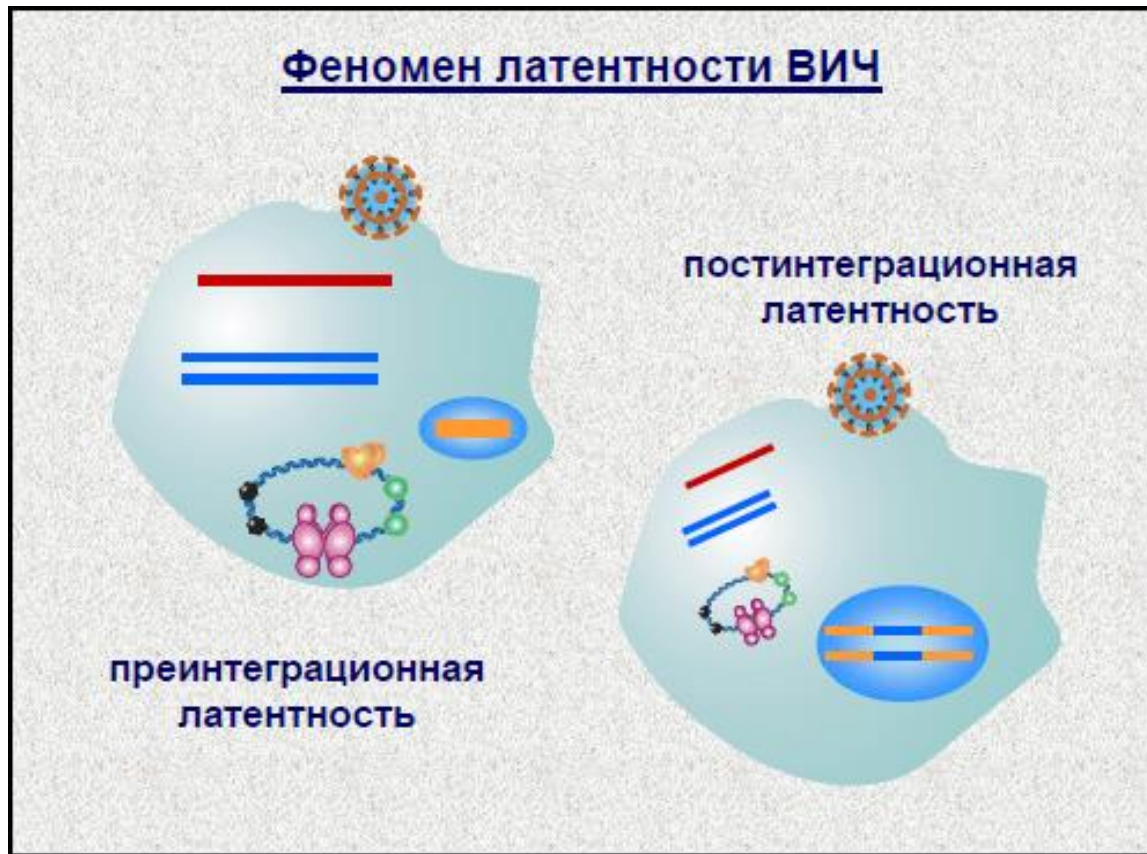


Рис. 4. Пути латентности ВИЧ-1  
(Бобкова, 2014)

Клетки, содержащие вирус в интегрированном состоянии, представляют меньшинство среди латентно инфицированных Т-клеток, но являются очень стабильным резервуаром. Просуществовав около шести месяцев, они либо гибнут, либо подвергаются делению вместе с провирусом, увеличивая тем самым количество инфицированных клеток.

Инфицированными, используя механизмы латентности, могут быть макрофаги и моноциты, однако их число значительно меньше популяции инфицированных Т-клеток памяти. Макрофагальные клетки устойчивы к цитопатическому действию ВИЧ, поэтому срок их жизни гораздо больше. Для воздействия иммунной системы они также менее доступны, поскольку продукция ВИЧ в них протекает на

низком уровне. Все это делает макрофаги и моноциты наиболее устойчивым и перспективным в плане сохранения популяции ВИЧ резервуаром. Кроме того, обнаружилось, что ингибиторы протеазы ВИЧ не воздействуют на вирус, находящийся в макрофагах, что дополнительно увеличивает важность этого пула в общей картине патогенеза ВИЧ.

Латентно инфицированные клетки различных компартментов образуются на ранних стадиях ВИЧ-инфекции. При отсутствии лечения наблюдается равновесие между их возникновением и гибелью. После начала лечения активированные клетки, содержащие вирус, быстро гибнут. После снижения ВН ВИЧ до недетектируемого уровня свой вклад в поддержание репликации на небольшом уровне вносят труднодоступные для лекарственных препаратов и иммунной системы макрофаги. При эффективной терапии вирусные частицы уже не обнаруживаются, но репликация поддерживается на крайне низком уровне за счет реактивации латентно инфицированных клеток и их редкого деления. Клетка, находящаяся в состоянии покоя, не подвержена действию лекарств, что ограничивает возможности ВААРТ по полному уничтожению вируса. Прекращение терапии приводит к восстановлению виремии в течение двух недель.

Существование резервуаров ВИЧ также поддерживает генетическое разнообразие всей вирусной популяции в целом. Залогом генетического разнообразия популяции ВИЧ является постоянно текущий мутационный процесс, в ходе которого образуются новые варианты вируса, в том числе и устойчивые к действию лекарственных препаратов. Часть из них архивируется в конечном счете в клетках памяти и служит в дальнейшем источником формирования популяции резистентных вариантов ВИЧ.

Биологические особенности вируса создают основу для постоянно протекающего мутационного процесса – как в естественных условиях, так и при проведении ВААРТ. ВИЧ – РНК-содержащий вирус, и большинство ошибок связаны с работой обратной транскриптазы вируса. Обратная транскрипция практически не подкреплена механизмом исправления ошибок. Это означает, что любая спонтан-

но возникшая в ходе обратной транскрипции мутация, имеет большие шансы закрепиться в потомстве.

Известно, что вирусы ВИЧ бывают двух видов. В современной человеческой популяции наиболее распространен ВИЧ-1, известный в популярной литературе просто как ВИЧ. В Европе и США распространен ВИЧ-1, в Западной Африке – ВИЧ-2. Второй тяжело диагностировать, болезнь развивается медленнее. Для ВИЧ-1 характерен очень быстрый репликативный цикл, в результате которого в организме зараженного человека образуется от  $10^9$  до  $10^{10}$  новых вирусных частиц ежедневно, при этом частота мутаций составляет  $3 \times 10^{-5}$ / один нуклеотид/один цикл. Таким образом, в день формируется до миллиона вирусных частиц, содержащих хотя бы одну мутацию. Результатом значительной скорости репликации и повышенной частоты мутаций становится накопление множества близких вариантов вируса (квазивидов) в организме одного хозяина. Большое количество вариантов ВИЧ составляет основу для его быстрой эволюции в случае применения препаратов ВААРТ и ухода из-под лекарственного контроля.

В отличие от других вирусных и бактериальных инфекций, ВИЧ-инфекция не вызывает формирования защитного иммунитета, а антитела к вирусным антигенам не обладают протективной защитой. Это создает возможности для развития ко-инфекции и суперинфекции, с одной стороны, а с другой – представляет постоянно текущий во времени процесс разрушения иммунной системы.

## **1.2. Иммунологические события на ранних этапах ВИЧ-инфекции**

ВИЧ-инфекция характеризуется длительным хроническим прогрессирующим течением со множеством сопутствующих и оппортунистических заболеваний на фоне генерализованного истощения иммунной системы. Согласно Российской клинической классификации (2006 г.), острая ВИЧ-инфекция развивается на раннем этапе заболевания и сопровождается «мононуклеозоподобным синдромом», симптомами поражения нервной системы и/или вторичными заболеваниями (герпетическая инфекция, кандидоз и другие). Эти события

связаны с относительно эффективным сопротивлением иммунной системы вирусной диссеминации. Если в инкубационном периоде вирус беспрепятственно размножается и вызывает гибель значительного числа восприимчивых CD4+Т-клеток, то в стадию острых проявлений отмечается их рост – в среднем до 800 кл/мл, хотя состояния предшествующей нормы этот показатель не достигает. По-видимому, на ранних этапах поражения вирус оказывает прямое цитопатическое действие на клетки, избирательно уничтожая покоящиеся CCR5 Т-лимфоциты эффекторной памяти.

Для ВИЧ-инфекции характерны не только количественные, но и качественные нарушения в популяции CD4+Т-лимфоцитов. Традиционно считается, что клетки этой субпопуляции не выполняют прямой эффекторной функции по уничтожению патогенов, а лишь помогают в этом другим клеткам иммунной системы с помощью секреции набора цитокинов. Нарушение их функции приводит к нарушению ответа на встречавшиеся ранее и новые антигены, что, вероятно, и вызывает развитие вторичных заболеваний в острую стадию ВИЧ-инфекции, а также нарушение функции CD8+Т-лимфоцитов.

С другой стороны, антитела при ВИЧ-инфекции не обладают протективной защитой, поэтому ведущая роль в снижении вирусной нагрузки на этапе острой инфекции принадлежит цитотоксическим CD8+Т-клеткам. Сила и длительность ответа со стороны клеток памяти CD8+ зависит от наличия ответа со стороны CD4+Т-лимфоцитов. Так, было установлено, что воздействие ИЛ-21, вырабатываемого CD4+Т-клетками, способствует сохранению функции CD8+Т-лимфоцитов. На этой стадии происходит интенсивное размножение клеток этого компартмента, которые способны уничтожать инфицированные ВИЧ-клетки как напрямую с помощью цитолиза, так и посредством вырабатываемых ими цитокинов, которые препятствуют образованию новых вирусных частиц.

Активность иммунного ответа тесно связана с устанавливающимся впоследствии уровнем вирусной нагрузки. У каждого пациента он индивидуален и служит важным прогностическим фактором в отношении скорости дальнейшего прогрессирования инфекции.



Другой важной иммунопатогенетической особенностью течения ВИЧ-инфекции на ранней стадии является резкое увеличение образования одних цитокинов и снижения других. Это явление получило название «цитокиновый шторм». При этом результаты различных исследований, проведенных в когортах пациентов с острой ВИЧ-инфекцией, разнятся. Согласно некоторым литературным данным, повышаются показатели ИЛ-2, ИЛ-15 и ИФН- $\gamma$ , а снижаются MIP-1 $\alpha$  и SDF-1 $\beta$ . Авторы другого исследования, проведенного в ЮАР, указывают на преобладающую роль ИЛ-12p40, ИЛ-12p70, ИФН- $\gamma$ , ИЛ-7 и ИЛ-15.

Поиски биологически активных молекул, имеющих важное значение при ВИЧ-инфекции, ведутся постоянно. Так, было обнаружено, что при острой инфекции наблюдается сильная корреляция между уровнем вирусной нагрузки ВИЧ и интерлейкином-23 (ИЛ-23), при этом повышение его уровня было устойчивым в течение всего периода наблюдения.

В целом же уровни цитокинов повышаются по мере роста вирусной нагрузки до максимальных индивидуальных уровней, что еще раз подчеркивает взаимообусловленность процессов вирусной репликации и иммунного ответа. Чрезмерный цитокиновый ответ вносит неблагоприятный вклад в нарушение иммунного реагирования на ранней стадии ВИЧ-инфекции. Согласно некоторым работам, при моноинфекции ВИЧ происходит уменьшение продукции ИЛ-2 и ИФН- $\gamma$  на фоне роста содержания ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-10, что способствует переключению иммунного ответа с Th1-зависимого на Th2-зависимый. Переход клеточного иммунитета в гуморальный знаменует собой в целом окончание стадии острой инфекции и ассоциируется с прогрессированием заболевания.

Таким образом, очевидно, что имеют место не отдельные нарушения в некоторых звеньях регуляции иммунного ответа при ВИЧ-инфекции, а системная глубоко взаимосвязанная дисфункция всех уровней иммунной регуляции. Тесный контакт CD4+Т-лимфоцитов и антигенпрезентирующих клеток (АПК) и избытие провоспалительных цитокинов поддерживают вирусную репликацию и на стадии хронической инфекции. Снижение числа CD4+Т-лимфоцитов и хро-

ническая антигенная стимуляция, берущая свое начало уже на стадии острой инфекции, являются основными причинами функциональной недостаточности иммунного ответа со стороны CD8+Т-лимфоцитов, которая возникает вскоре при переходе заболевания в субклиническую стадию.

### **1.3. Нарушения клеточного иммунитета при ВИЧ-инфекции**

Ведущим звеном патогенеза ВИЧ-инфекции является глубокое нарушение функций иммунной системы, в первую очередь связанное со значительной деструкцией CD4+Т-лимфоцитов. У Т-лимфоцитов в целом снижается пролиферация и образование антигенспецифических клонов. Это связано с тем, что Т-лимфоциты утрачивают способность продуцировать ИЛ-2, который является ростовым фактором для всей популяции Т-клеток в целом. ИЛ-2 также влияет на процесс дифференцировки Т-лимфоцитов на CD4+ и CD8+ субпопуляции и активность натуральных киллеров. По мере прогрессирования заболевания и перехода ВИЧ-инфекции в хроническую стадию дефицит ИЛ-2 нарастает. Это явление связано не только со снижением числа CD4+Т-лимфоцитов, но и с возникновением их функциональных дефектов: уменьшается их хелперная активность, способность реагировать на повторный антиген и пролиферативные возможности.

Количество CD4+Т-лимфоцитов в периферической крови постоянно снижается, и связано это в первую очередь с их непосредственной гибелью под воздействием вируса. В этом процессе участвуют вирусные антигены gp120 и gp160, которые связываются с  $\beta$ -субъединицей Т-клеточного рецептора (ТКР). Так формируется синцитий – конгломераты вирусных частиц и Т-лимфоцитов, оседающих в сосудах микроциркуляторного русла и погибающих там. В гибели зараженных CD4+Т-лимфоцитов участвуют также цитотоксические CD8+Т-лимфоциты и натуральные киллеры, напрямую уничтожающие клетки, и антитела – путем антитело-зависимой цитотоксичности.

Другим важным механизмом гибели Т-лимфоцитов является апоптоз, которому подвержены и CD4+, и CD8+ субпопуляции. Яв-

ление апоптоза может быть инициировано несколькими путями – антителами к ТКР, суперантигенами, взаимодействием вирусного антигена р56 с CD4+ рецептором.

Процесс апоптоза запускается при взаимодействии CD95 с лигандом с последующей активацией ряда факторов, ответственных за программируемую гибель клетки. CD95 представляет собой трансмембранный белок с молекулярной массой 45 кДа с тремя характерными, обогащенными цистеином внеклеточными доменами и относится к суперсемейству фактора некроза опухолей. Антиген представлен на мембранах практически всех типов нормальных, а также на вирусинфицированных и опухолевых клеток. Установлено, что рецептор CD95 (Fas/Apo-1) существует в (Fas/Apo-1R) и растворимой (sFas/Apo-1) формах. Этот растворимый белок конкурирует с мембранно-связанным рецептором Fas/Apo-1 в связывании лиганда и может ингибировать Fas-опосредованный апоптоз. На современном этапе ведутся исследования по выявлению характера изменения сывороточной концентрации sFas/Apo-1 антигена при ВИЧ-инфекции. Интерес к исследованию его функции связан в первую очередь с вовлечённостью Fas рецептор-лигандной системы в вирусиндуцированный апоптоз. До конца не выяснены закономерности апоптоза в различных популяциях и субпопуляциях лимфоцитов при ВИЧ-инфекции. Продемонстрировано, что неинфицированные CD4+Т-лимфоциты при ВИЧ-инфекции погибают преимущественно по механизму апоптоза. Напротив, в популяции продуктивно инфицированных CD4+Т-лимфоцитов наблюдается подавление программы апоптоза. Угнетение апоптоза продуктивно инфицированных CD4+Т-лимфоцитов играет негативную роль для ВИЧ-инфицированных лиц, так как способствует поддержанию репликации ВИЧ-1.

Еще одним известным механизмом убыли CD4+Т-лимфоцитов является аутоиммунный. Известно, что оболочечный белок gp120 имеет аллоэпитопы, идентичные эпитопам молекул главного комплекса гистосовместимости II класса, рецептора ИЛ-2, тимозина и некоторых других. Эти участки оболочки вируса позволяют ему уxo-

доть от контроля иммунной системы, внося свой вклад в частичную неустойчивость ВИЧ.

Свое биологическое действие на популяцию Т-лимфоцитов оказывают и цитокины, в частности, ФНО- $\alpha$  – благодаря цитотоксическому действию на ВИЧ-инфицированные клетки. Оно также реализуется посредством апоптоза. После связывания ФНО- $\alpha$  с рецептором на поверхности клетки-мишени индуцируется внутриклеточный каскад цитотоксических реакций. Происходит опосредованная белком G активация фосфолипаз, образование свободных радикалов и разрушение ДНК ядра клетки нуклеазами, в конечном счёте, клетки претерпевают апоптоз и погибают.

Важным также является сокращение репертуара ТКР, то есть утрата разнообразия его структуры, в особенности варибельного региона его  $\beta$ -цепи. С уменьшением числа CD4+Т-лимфоцитов процент атипичных вариантов этих участков ТКР у вич-инфицированных увеличивается по сравнению с неинфицированными лицами. Клетки, имеющие такие структурные изменения в рецепторе, не распознают антигенные детерминанты вируса.

Таким образом, в процессе убыли клеток в популяции Т-лимфоцитов играют роль разнообразные механизмы. При этом существует и процесс восстановления их популяции, протекающий параллельно с процессом гибели клеток. Время обновления и нормальных, и инфицированных CD4+Т-лимфоцитов составляет два дня. Погибающие клетки восполняются новыми, в результате чего наблюдается равновесие между утратой и появлением неинфицированных клеток. Постоянное обновление CD4+Т-лимфоцитов приводит к истощению резерва обновляющихся клеток на поздних стадиях ВИЧ-инфекции. В таком случае даже назначение ВААРТ не может гарантировать восстановление клеточной популяции до сколько-нибудь приемлемого уровня, поскольку возможности иммунной системы оказываются исчерпанными.

ВИЧ-инфекция протекает с постоянной репликацией вируса, активацией иммунной системы и утратой CD4+Т-лимфоцитов, приводящей к лимфопении. Длительное хроническое течение ВИЧ-инфекции вызывает патологические изменения и в гуморальном иммунитете.

те. ВИЧ оказывает влияние на функциональную активность В-лимфоцитов, увеличивая синтез иммуноглобулинов, в особенности – продукцию IgG. При этом большая часть вырабатываемых антител являются неспецифическими и ограничивающего влияния на популяцию ВИЧ не оказывают. Гиперпродукция иммуноглобулинов в целом нарастает в ходе инфекции, а количество специфических антител к белкам вируса составляет около 5% от всего количества иммуноглобулинов. Наибольшее количество антител образуется к белкам, кодируемым генами Env и Gag, среди которых наиболее антигенными являются gp120 и gp41 вирусной оболочки, а также белки нуклеокапсида – p24 и p17.

Динамика выработки антител к различным белкам различается. Уровень Env-антител максимален в период прогрессии заболевания и остается высоким на всех стадиях ВИЧ-инфекции до наступления смерти больного, а Gag-антитела в этот период исчезают. Прогностически наиболее важными являются Env-антитела, поскольку указывают именно на прогрессирование заболевания. Причина отсутствия протективной антивирусной функции у Gag-антител остается неясной.

Таким образом, и в периоде острой, и в периоде хронической инфекции происходят нарушения в функциональной активности В-лимфоцитов, которые характеризуются следующими особенностями:

- 1) наблюдается гипергаммаглобулинемия, в основном за счет гиперпродукции Ig G;

- 2) защитные антитела отсутствуют в достаточном для противовирусной защиты количестве;

- 3) в период прогрессии заболевания количество антител к gp120 и gp41 максимально и отражает ход ВИЧ-инфекции;

- 4) анти-Gag-антитела не отражают стадии заболевания и ассоциируются с процессом вирусной репликации, падением числа CD4+Т-лимфоцитов и продукцией ФНО-α;

- 5) в ходе ВИЧ-инфекции наблюдается неспецифическая поликлональная активация В-лимфоцитов, которая вызывается как прямым действием ВИЧ, так и опосредованно действием различных цитокинов и утратой Т-хелперного контроля;

б) ВААРТ способствует нормализации равновесия между анти-телопродуцирующими клетками и титром антител.

Выраженная гипергаммаглобулинемия сочетается с гиперреактивностью В-клеток, аутоиммунными проявлениями, но при этом – с низким гуморальным ответом на специфический антиген. Изменения, протекающие в популяции В-клеток, характеризуются повышенной активацией, пролиферацией и экспрессией маркеров терминальной дифференцировки на циркулирующих клетках.

Терминальная дифференцировка представляет собой естественный процесс старения любой клетки. Это необратимый процесс, после которого клетка не может дифференцироваться и реализовать свою тотипотентность. Вместе с потерей тотипотентности у клеток снижается морфогенетический потенциал, и в результате клетка гибнет. Терминальная дифференцировка ассоциируется с утратой клетками экспрессии CD20 и CD21, отсутствием увеличения размеров В-клеток, снижением плазмацитоидных черт, а также увеличением экспрессии CD38 и CD27.

В дополнение, постоянная антигенная активация В-клеток считается фактором, который увеличивает количество озлокачествленных В-лимфоцитов, что наблюдалось у ВИЧ-инфицированных больных до наступления эпохи эффективного лечения ВААРТ. Данные о В-клеточной гиперактивации можно оценивать как прямое доказательство возникновения репликации ВИЧ. Снижение В-клеточной гиперактивации отмечается после уменьшения ВИЧ-вирусемии вследствие применения ВААРТ. Показано, что ВААРТ уменьшает гипергаммаглобулинемию и количество В-лимфоцитов в крови, которые спонтанно секретируют иммуноглобулины. Увеличение числа В-клеток в крови с признаками терминальной дифференцировки связано с ВИЧ-вирусемией. Исследование с помощью микрочипов (microarray-анализ) ДНК В-клеток, полученных от ВИЧ-пациентов с активной репликацией вируса и вирусемией, от ВИЧ-пациентов без вирусемии и от ВИЧ-негативных лиц, выявило, что 24% генов, обнаруженных у пациентов с гипервирусемией, не обнаруживались у ВИЧ-пациентов без вирусемии и ВИЧ-негативных лиц, что было свя-

зано, по мнению исследователей, с В-клеточной терминальной дифференцировкой.

Известно, что ВИЧ продуктивно инфицирует В-клетки *in vivo*. Было показано, что В-клетки, изолированные из крови и лимфатических узлов ВИЧ-инфицированных лиц, несут на своей поверхности вирус, способный к репликации. Это взаимодействие опосредуется прямым контактом с CD21+, экспрессированном на поверхности В-клеток. Эти данные согласуются с другими работами, демонстрирующими выраженную роль CD21+ в захватывании вирионов, покрытых антителами и комплементом. Эта форма взаимодействия между В-клетками и вирионом, опсонизированным комплементом, часто появляется *in vivo*. Потенциальные следствия прямого связывания ВИЧ с В-клетками вызывает усиление инфицированности, которое опосредуется взаимодействием между вирионом, связывающим В-клетки с клетками-мишенями – CD4+Т-клетками. Однако относительно низкая частота В-клеток, взаимодействующих с ВИЧ в организме инфицированного индивидуума, контрастирует с высокой частотой В-клеточной дисфункции. Скорее всего, дисфункция В-клеток возникает в результате непрямого действия ВИЧ. Подобные результаты известны в отношении прямого и непрямого действия ВИЧ на CD4+Т-клетки.

Другим предполагаемым путем связывания В-клеток с ВИЧ является гликопротеин gp120 (вирусный суперантиген) с вариабельным доменом тяжелой цепи (Vh3) иммуноглобулина. Ряд исследователей показали снижение (истощение) В-клеток, экспрессирующих Vh3 у лиц, инфицированных ВИЧ, хотя другие авторы не подтверждают эти результаты или обнаруживают изменения в Vh3 репертуаре, в результате которых не устанавливаются взаимосвязи Vh3 с gp120.

При идентификации различных субпопуляций В-клеток у ВИЧ-инфицированных лиц выявлено множество отклонений от нормального распределения этих субпопуляций. Соотношение В-клеточных субпопуляций нарушено не только в органах и тканях ВИЧ-инфицированных лиц, но и в периферической крови, где наивные В-клетки составляют большинство. Число В-клеток памяти, количество которых значительно варьирует даже среди здоровых индивидуумов,

уменьшается у пациентов, инфицированных ВИЧ. В-клетки памяти человека характеризуются экспрессией CD27 на поверхности клетки. Однако CD27+ является также маркером В-клеточной активации и терминальной дифференцировки. Наличие CD21 маркера позволяет различить активированные и покоящиеся В-клетки. В-клетки в терминальной фазе дифференцировки утрачивают экспрессию CD20 и характеризуются сниженной экспрессией CD19. Для ВИЧ-инфицированных пациентов с вирусемией характерно преобладание CD27+В-клеток и, кроме этого, встречаются CD27+В-клетки, которые одновременно экспрессируют CD21<sup>lo</sup> или CD21<sup>hi</sup>. В-клетки с экспрессией только CD27+ у ВИЧ-пациентов с вирусемией по численности незначительно отличаются от ВИЧ-негативных лиц. Однако плазматические клетки (CD20/CD21<sup>lo</sup>/CD27<sup>++</sup>/CD38<sup>+++</sup>), циркулирующие в крови у здоровых людей, не превышают 1%, тогда как у ВИЧ-пациентов с вирусемией относительное содержание этих клеток увеличивается в несколько раз. Относительное число зрелых/активированных В-клеток, изолированных из миндалин, которые имеют одинаковый фенотип с недавно выявленными В-клетками памяти (CD20<sup>++</sup>/CD21<sup>lo</sup>/CD27<sup>-/+</sup>/CD38<sup>-/+</sup>), также увеличено у ВИЧ-пациентов с вирусемией. Доля этих клеток у здоровых составляет не более 5%, тогда как у ВИЧ-пациентов с вирусемией достигает 25%. Было обнаружено, что у хронически инфицированных ВИЧ лиц перед проведением ВААРТ среднее количество активированных и терминально-дифференцированных В-клеток в периферической крови составило 29%. После одного года эффективной ВААРТ относительное число этих клеток падало до 12%.

У здоровых лиц были зафиксированы в периферической крови незрелые/переходные В-клетки. Было обнаружено, что их частота значительно увеличена при различных иммунодефицитных состояниях, включая ВИЧ-инфекцию. Эта популяция В-клеток характеризовалась экспрессией CD10 и отсутствием CD27 и составляла 30% от В-клеток периферической крови у ВИЧ-инфицированных больных по сравнению с 10% у здоровых людей. В-клетки, несущие CD10 и CD27, представлены в зрелом герминальном центре В-клеток. Их ко-



личество в периферической крови здоровых лиц составляет 2% и остается неизменным в ходе ВИЧ-инфекции. И наоборот, незрелые/переходные В-клетки могут быть разделены в дальнейшем на более зрелые (CD21<sup>hi</sup>/CD10<sup>+</sup>) и менее зрелые (CD21<sup>lo</sup>/CD10<sup>++</sup>). Последние редко встречаются в крови здоровых лиц и характерны для инфицированных ВИЧ-пациентов с прогрессирующим течением заболевания. Эти пациенты имеют низкий уровень CD4<sup>+</sup>Т-клеток. Взаимосвязь между незрелыми/переходными В-клетками и CD4<sup>+</sup>Т-клеточной лимфопенией коррелирует с увеличением уровня цитокина ИЛ-7, вовлекаемого в поддержание гомеостаза субпопуляции лимфоцитов при ВИЧ-инфекции.

Гибель клетки путем апоптоза является важным компонентом активации и элиминации лимфоцитов при ВИЧ-инфекции. Существуют два главных пути реализации апоптоза: внутренний, свойственный каждой клетке, который возникает из-за недостаточности факторов выживания, что приводит к апоптозу, опосредованному митохондриями, и внешний, который возникает из-за активации рецепторов программируемой клеточной гибели. При ВИЧ-инфекции оба эти пути вносят свой вклад в усиление гибели В-лимфоцитов и их элиминации из первичных и вторичных лимфоидных органов. С одной стороны, незрелые/переходные В-клетки чаще всего гибнут в результате реализации внутренних факторов апоптоза, как результат низкой экспрессии генов, членов Bcl-2 семейства, ассоциированного с выживанием клеток, включая Bcl-2 и Bcl-xL. С другой стороны, зрелые/активированные В-клетки высоко чувствительны к внешним факторам, активирующим рецепторы программируемой клеточной гибели, в результате чего увеличивается экспрессия CD95 и усиливается апоптоз в присутствии CD95 лиганда.

Учитывая, что численность обоих типов В-клеток увеличена с началом вирусной репликации у ВИЧ-инфицированных лиц, а также то, что результаты эффективности ВААРТ при заболевании приводят к уменьшению апоптоза незрелых/переходных и зрелых/активированных В-клеток и сопровождаются увеличением общего числа В-клеток, можно говорить, что снижение числа В-лимфоцитов

у ВИЧ-инфицированных лиц осуществляется путем реализации апоптоза.

Высокий уровень активации иммунитета и обновления В-клеток, который наблюдается при наступлении ВИЧ-репликации, вносит вклад в увеличение гибели В-клеток, индуцированного активацией рецепторов программируемой клеточной гибели. При ВИЧ-инфекции увеличивается обновление клеток, многократно показанное для CD4+ и CD8+Т-лимфоцитов и, в меньшей степени, для В-клеток. Внутри В-клеточных компартментов вторичных лимфоидных органов зрелые активированные В-клетки характеризуются повышенным уровнем экспрессии маркеров клеточного цикла Ki-67, что позволяет предположить, что эта субпопуляция В-клеток является результатом ВИЧ-индуцированного В-клеточного обновления.

В дополнение, зрелые/активированные В-клетки характеризуются повышенной экспрессией активационных маркеров CD80, CD86 и CD38, что предполагает их максимальную чувствительность к апоптозу, индуцированному пролиферацией и активацией. CD95 – один из множества рецепторов программируемой клеточной гибели – максимально экспрессирован на В-клетках ВИЧ-инфицированных пациентов с вирусемией, что было подтверждено результатами ДНК microarray-анализа. CD95 является одним из многих антигенов, экспрессия которого индуцируется под воздействием интерферона 1 типа (ИФН). Так как ген ИФН 1 типа может включаться под воздействием ВИЧ, из этого следует, что гены, индуцируемые ИФН, могут также включаться под воздействием ВИЧ. Фенотипический анализ выявил, что экспрессия CD95 наиболее выражена на зрелых/активных В-клетках, которые также экспрессируют активационные маркеры Ki-67. Более того, было продемонстрировано, что наличие В-клеток с высоким уровнем экспрессии CD95 коррелировало с уровнем вирусемии у ВИЧ-инфицированных пациентов. Приведенные данные свидетельствуют о том, что усиление репликации ВИЧ ассоциируется с появлением чувствительных к апоптозу популяций В-клеток, в результате чего повышается их обновление и активация. Баланс этих событий реализуется в итоге в В-клеточной лим-

фопении, выявляемой при исследовании периферической крови пациентов с ВИЧ-инфекцией и вирусемией.

Эффекты ВИЧ-инфекции могут быть разделены на две категории. Первая категория связана с изменениями, которые находят свое отражение в *in vivo* феноменах, таких как гипергаммаглобулинемия, увеличение уровня аутоантител, слабый ответ на специфические антигены. Вторая категория феноменов может быть выявлена только в случае изучения *ex vivo* В-клеток, полученных от ВИЧ-инфицированных пациентов. В этой области за последние 25 лет достигнуты существенные успехи, так как новая техника и улучшение понимания развития В-клеток помогают выделить различные элементы дисфункции В-клеток, связанные с ВИЧ-инфекцией. Ранние наблюдения *ex vivo* были основаны на проведении исследований с использованием нефракционированных В-клеток, и поэтому было трудно оценить их результаты, сделать адекватные выводы. Недавно полученные данные основаны на изучении фракционированных В-клеток и возможности контролировать вирусную нагрузку после ВААРТ. Такие эксперименты позволяют объяснить, как ВИЧ-вирусемия индуцирует экспансию терминально дифференцированных В-клеток с секрецией высокого уровня иммуноглобулинов, как утрачивается отвечаемость на специфические антигены и как формируется выраженная склонность к гибели клетки. В дополнение, повышение доли незрелых/переходных В-клеток, особенно у пациентов с прогрессивной CD4+Т-клеточной лимфопенией, также объясняет неответчаемость В-клеток *ex vivo* на В-клеточные стимулы. Незрелые/переходные В-клетки, как было показано, плохо отвечают на стимуляцию, быстро погибают от митохондрий-опосредованного апоптоза. Более того, более чем 50% В-клеток периферической крови, изолированных от ВИЧ-пациентов с хронической вирусемией, являются комбинацией незрелых/переходных и зрелых/активированных В-клеточных популяций. Преобладание таких уклоняющихся от стимуляции В-клеток объясняет существовавшую компиляцию о слабом ответе всех В-клеток *in vivo* и *ex vivo* на специфический антиген.

Утрата функции В-клеток была также исследована путем восстановления событий сходных взаимодействий, которые встреча-

ются между В-клетками и CD4+Т-клетками после антигенной стимуляции.

В-клетки приобретают способность представления антигена, которая затем дает возможность им обеспечить помощь CD4+Т-клеткам. Это наблюдается в части стимуляторных взаимодействий между CD80/CD86 рецепторами, экспрессия которых повышается после В-клеточной активации и CD28 на отвечающих CD4+Т-клетках. В-клеточная антиген-представляющая функция неэффективна у ВИЧ-пациентов с вирусемией, так как имеются доказательства неспособности активированных В-клеток обеспечить проведение стимулирующего сигнала через CD80/CD86 к аутологичным CD4+ клеткам. Более того, CD4+Т-лимфоциты у ВИЧ-пациентов с вирусемией также не способствуют передаче этого сигнала ввиду нарушенного взаимодействия между CD40 лигандом на Т-клетках и CD40 на В-клетках. Уменьшение вирусемии после ВААРТ было ассоциировано с нормализацией двунаправленного взаимодействия между В-клетками и CD4+Т-клетками. Нарушенное двунаправленное взаимодействие между В-клетками и CD4+Т-клетками при вирусемии является одним из объяснений отсутствия ответа В-клеточных субпопуляций на антигенный стимул. Следует отметить, что антиген-специфическая В-клеточная память на иммунизацию не нормализуется даже после проведения ВИЧ-пациентам ВААРТ.

До настоящего времени крайне мало внимания уделялось индукции ВИЧ-специфических В-клеток. Известно, что в циркуляции обнаруживаются значительные количества антиген-специфических В-клеток, которые коррелируют с уровнем анти-ВИЧ-антител в сыворотке крови. Однако поликлональная активация В-клеток и гипергаммаглобулинемия снижаются с уменьшением вирусемии, так же как частота ВИЧ-специфических В-клеток и анти-ВИЧ-антител при лечении ВААРТ. Из экспериментов на SIV моделях следует, что анти-SIV-антитела могут осуществлять контроль за репликацией вируса. Важно выявить все механизмы, участвующие в подъеме и падении ВИЧ-специфического ответа В-клеток у инфицированных лиц, и понять, может ли раннее вмешательство привести к формированию ви-

рус-специфических нейтрализующих антител, контролирующих репликацию вируса.

Все эти данные свидетельствуют о значимой роли иммуноглобулинов в ранней защите организма от ВИЧ-инфекции. После неудачных Т-клеточных вакцин против ВИЧ-инфекции многие исследователи пришли к выводу, что вакцина, представленная антителами, будет более активной, чем имевшаяся. С этой целью ведутся работы по получению моноклональных антител, связывающих вирусные эпитопы и препятствующих проникновению вируса в клетку.

Воздействие ВИЧ на клетки иммунной системы не ограничивается явными клетками-мишенями. Взаимоотношения между дендритными клетками и натуральными киллерами являются крайне важными для врожденного и адаптивного иммунного ответа при ВИЧ-инфекции. На самом раннем этапе иммунного ответа дендритные клетки индуцируют ИФН 1 типа. При захвате вирусных частиц и активации ВИЧ они продуцируют значительные количества ИЛ-15, который способствует активации и пролиферации натуральных киллеров.

Натуральные киллеры делятся на популяции по степени экспрессии поверхностных антигенов и функциям:

1)  $CD3^{neg}CD56^{dim}CD16^{pos}$  обладают высокой способностью уничтожать клетки-мишени – напрямую или с помощью антитело-зависимой и клеточно- опосредованной цитотоксичности;

2)  $CD3^{neg}CD56^{bright}CD16^{pos}$  продуцируют значительные количества Th-1 цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ ) и ряд хемокинов, которые стимулируют развитие адаптивного Th-1 ответа.

Натуральные киллеры экспрессируют множество ингибиторных и активационных рецепторов и корецепторов, которые соединяются с их собственными лигандами, экспрессированными на поверхности клеток-мишеней. Лигандами являются антигены главного комплекса гистосовместимости I класса, подобные им белки и другие белки собственного и вирусного происхождения. Рецепторы натуральных киллеров (NKR) из семейства клеточных иммуноглобулинподобных киллерных рецепторов (KIR) высокополиморфны. Взаимодействия между определенными KIR и генами главного комплекса гистосов-

местимости I класса определяют врожденную резистентность к вирусным инфекциям, включая ВИЧ.

Однако ВИЧ умеет избегать иммунного ответа, реализуемого натуральными киллерами. Вирусный белок Nef снижает экспрессию HLA-подобных молекул на инфицированных клетках-мишенях, которые являются лигандами для активационного маркера NKG2D, при соединении которых и происходит гибель клеток, инфицированных ВИЧ.

Одновременно с этим натуральные киллеры являются важными регуляторами противовирусного адаптивного иммунного ответа. Эта функция осуществляется путем синтеза и продукции цитокинов клетками с фенотипом  $CD3^{neg}CD56^{bright}CD16^{pos}$  после взаимодействия с дендритными клетками.

При ВИЧ-инфекции описан еще один механизм избегания вирусом защитной функции натуральных киллеров. ИЛ-18, индуцирующий продукцию ИФН- $\gamma$  в присутствии ИЛ-12 натуральными киллерами и Т-лимфоцитами, реализует свое действие путем связывания со своим рецептором. При ВИЧ-инфекции продукция ИЛ-18 повышена. Этот цитокин повышает экспрессию Fas-L на натуральных киллерах, повышает транскрипцию от Fas-L промотора, снижает экспрессию V $\alpha$ 1-XL, что приводит к повышению чувствительности к Fas-L опосредованной клеточной гибели.

Таким образом, при ВИЧ-инфекции происходит нарушение многих клеточных популяций, ответственных за реализацию иммунного ответа. Эти изменения затрагивают структурные, функциональные, пролиферативные особенности клеток иммунной системы. Изучение патогенеза ВИЧ-инфекции на уровне клеточных реакций позволяет разрабатывать новые лекарственные препараты и осуществлять ранний контроль за прогрессированием заболевания.

#### **1.4. Изменения цитокиновой регуляции при ВИЧ-инфекции**

Цитокины обладают разнообразными свойствами. Одни из них защищают от ВИЧ-инфекции, тогда как другие способствуют развитию иммунодефицитного состояния.

Как известно, CD4+Т-лимфоциты в зависимости от набора секретуемых цитокинов делятся на Т-хелперы первого и второго типов. Т-хелперы 1-го типа вырабатывают ИЛ-2 и ИФН- $\gamma$ , которые стимулируют эффекторные механизмы иммунной системы и оказывают свое влияние на CD8+Т-лимфоциты, натуральные киллеры и макрофаги. Т-хелперы 2-го типа вырабатывают ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-10 и ИЛ-13, активирующие гуморальный иммунный ответ. Кроме того, при ВИЧ-инфекции большая роль принадлежит моноцитам/макрофагам, продуцирующим цитокины и хемокины. Их функция нарушается в результате снижения числа CD4+Т-хелперных лимфоцитов и их активности. Провоспалительный клон макрофагов M1 продуцирует ИЛ-6, ИЛ-12, ФНО, внося свой вклад в дисбаланс цитокиновой сети. Установлено, что увеличение провоспалительных цитокинов в плазме ВИЧ-инфицированных пациентов приводит к усилению активности рецептора запрограммированной смерти PD-1 на моноцитах.

Феномен масштабных изменений в синтезе цитокинов иммунокомпетентными клетками при ВИЧ-инфекции получил название «цитокиновый шторм». Этот термин отражает ответ иммунной системы на внедрение и дальнейшую репликацию ВИЧ-1 и по сути своей описывает высокую степень рассогласованности в цитокиновой регуляции, в которую вмешивается инфекционный агент. Проникновение вируса в лимфоидную ткань вызывает иммунный ответ, включающий в себя в том числе синтез и продукцию цитокинов. Локальное поддержание значительных концентраций некоторых из них, а также снижение концентраций ряда других цитокинов, активирует экспрессию ВИЧ, находящегося в интегрированном состоянии в инфицированных клетках. Оппортунистические инфекции способствуют прогрессированию заболевания за счет дополнительной стимуляции иммунитета и влияния тем самым на синтез цитокинов. Комплекс цитокиновых эффектов даже при относительной иммунологической стабильности способствует поддержанию постоянного уровня экспрессии вируса, в том числе и на бессимптомной стадии инфекции.

В ряде исследований было показано, что изменения в продукции цитокинов опосредуются вирусными белками и приводят к необра-

тимым изменениям в иммунной системе и в конечном итоге – к развитию терминальной стадии ВИЧ.

ВИЧ-1 использует активацию синтеза цитокинов и их биологические эффекты для регуляции своей экспрессии и поддержания состояния латентности. При этом формируется механизм обратной связи взаимного влияния вирусной экспрессии и синтеза цитокинов: ВИЧ активирует продукцию ряда цитокинов на высоком уровне, они усиливают экспрессию вируса, увеличение популяции антигена вновь стимулирует синтез цитокинов. Продукция цитокинов не является универсальной и контролируется типом клетки. Изменения вирусной репликации под воздействием цитокинов составляют суть концепции цитокин-индуцированных изменений перmissивности вируса. Среди регулирующих экспрессию ВИЧ цитокинов наиболее известны ИЛ-1 ( $\alpha$  и  $\beta$ ), ИЛ-2, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ .

ФНО- $\alpha$  является основным провоспалительным цитокином. Его воздействие на клетки приводит к развитию и поддержанию воспалительного ответа на различные антигены за счет продукции других цитокинов и хемоаттрактантов. ФНО- $\alpha$  играет решающую роль в экспрессии вирусного генома. Это связано с тем, что и экспрессию ФНО- $\alpha$ , и экспрессию LTR (длинные концевые повторы – единственный промотор транскрипции ВИЧ) контролируют одни и те же ядерные транскрипционные факторы (NF $\kappa$ B). ВИЧ-1 напрямую индуцирует продукцию ФНО- $\alpha$ , который затем способствует репликации вируса, находящегося в клетке в состоянии латентности. ФНО- $\alpha$ , в свою очередь, усиливает синтез и продукцию провоспалительных цитокинов ИЛ-1 и ИЛ-6, которые также усиливают экспрессию генома ВИЧ-1. ФНО- $\alpha$  является одним из индукторов M1-поляризации макрофагов, которые начинают продуцировать провоспалительные цитокины, такие как ИЛ-12, ИЛ-18 и вновь ФНО- $\alpha$ , и большее количество воспалительного белка макрофагов 1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ), который способен подавлять репликацию штаммов ВИЧ.

Однако ФНО- $\alpha$  вносит не только негативный вклад в течение ВИЧ-инфекции: он оказывает цитолитическое действие на инфицированные клетки и является медиатором киллинга у цитотоксических



CD8+Т-лимфоцитов и натуральных киллеров. Кроме того, ряд исследователей полагают, что цитотоксическое действие на пораженные ВИЧ-клетки ФНО- $\alpha$  реализуется посредством апоптоза.

В целом, можно отметить, что чем выше продукция ФНО- $\alpha$ , тем выше уровень репликации вируса. Некоторые исследователи полагают, что определение этого цитокина в крови ВИЧ-инфицированных пациентов имеет прогностическую значимость и ухудшает прогноз, при этом уменьшение уровня ФНО- $\alpha$  свидетельствует об эффективности ВААРТ.

Другим важным патогенетическим звеном является утрата Т-лимфоцитами способности продуцировать ИЛ-2. Вирусные белки не влияют напрямую на его синтез; снижение концентрации ИЛ-2 опосредовано интеграцией вирусного генома рядом с регуляторными последовательностями гена ИЛ-2, что приводит к подавлению его синтеза. Будучи Т-клеточным ростовым фактором, ИЛ-2 влияет на дифференцировку Т-лимфоцитов, активность натуральных киллеров (НК-клетки), хелперную активность CD4+Т-лимфоцитов и их способность реагировать на повторное введение антигена. Дефицит его нарастает с прогрессией заболевания и совпадает со снижением количества CD4+Т-лимфоцитов.

По другому пути увеличивает продукцию вируса ИЛ-6 – он усиливает транскрипцию РНК ВИЧ. Физиологический эффект ИЛ-6 заключается в воздействии на пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов. Тем самым он играет ведущую роль в поликлональной активации В-клеток. ИЛ-6 секретируется в первую очередь Т-лимфоцитами памяти, которые являются преимущественной мишенью для инфицирования ВИЧ. Таким образом, заражение Т-лимфоцитов памяти сопровождается секрецией этого цитокина и, следовательно, поддержанием процесса поликлональной активации В-лимфоцитов. Повышение уровней ИЛ-6 не зависит от наличия у больного сопутствующей инфекции. Данные исследования, проведенного в Южной Африке, свидетельствуют, что высокая концентрация ИЛ-6 до начала лечения на поздних стадиях ВИЧ-инфекции может быть предиктором повышенного риска смертности после начала ВААРТ в группе обследо-

ванных пациентов. В этом же исследовании не было отмечено корреляции между уровнем ИЛ-6 и ВН.

Интерес вызывают исследования, свидетельствующие о роли ИЛ-6 в качестве предиктора возрастных заболеваний, включая астению и смертность, на фоне преждевременного иммунного старения при инфицировании ВИЧ. В другом исследовании было показано, что ИЛ-6 стимулирует Т-клеточную пролиферацию *in vitro*, следовательно, как полагают авторы, ИЛ-6 может вызывать прогрессирование ВИЧ-инфекции. В активированных Т-лимфоцитах вирус размножается больше и активнее, чем в покоящихся, а значит, и индуцированная этим цитокином Т-клеточная пролиферация может привести к увеличению количества Т-клеток, в большой степени подверженных инфицированию.

CD8+Т-лимфоциты также продуцируют специфический хемотаксический фактор ИЛ-16, воздействующий на CD4+Т-лимфоциты и являющийся для них хематтрактантом. Его действие основано на блокировании клеток этой субпопуляции, вследствие чего ИЛ-16 блокирует вирусную репликацию. Кроме того, ИЛ-16 защищает от апоптоза Т-лимфоциты, стимулированные ИЛ-2.

Данные о регуляторных эффектах ИЛ-23 при ВИЧ-инфекции малочисленны. Он состоит из субъединицы p40 ИЛ-12 и белка p19. Полноценный ИЛ-23 секретируется активированными дендритными клетками. Субъединица p40 секретируется при избытке ИЛ-12p35 и может связываться с субъединицей p19 с формированием ИЛ-23. Последовательность аминокислотных остатков p19 субъединицы имеет высокую степень гомологии с последовательностью у членов суперсемейства ИЛ-6, менее выраженная гомология обнаружена с субъединицей p35 ИЛ-12. Данная субъединица сама по себе не обладает биологической активностью, но при соединении с p40 субъединицей формируется биологически активный цитокин ИЛ-23. Функции ИЛ-23 отличаются от функций ИЛ-12. В отличие от ИЛ-12, ИЛ-23 не обладает влиянием на наивные Т-клетки, но селективно активирует Т-клетки памяти, что приводит к увеличению синтеза ИФН- $\gamma$  и ИЛ-17. В отличие от ИЛ-12, ИЛ-23 обладает большей способностью в индукции длительного Т-клеточного ответа на вирусные антигены.

Переключение иммунного ответа с Th1- на Th2-ответ характеризует функциональную недостаточность клеточного звена иммунитета, при этом наблюдаются изменения цитокинового профиля: снижение продукции ИЛ-2 и увеличение ИЛ-4 и ИЛ-10, что влечет за собой преобладание гуморального ответа и прогрессирование заболевания. Дисбаланс продукции цитокинов играет важную роль в запуске апоптоза: увеличение синтеза ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и снижение ИЛ-2 (ростовой фактор Т-лимфоцитов) играют значительную роль в гибели CD4+Т-лимфоцитов.

Система интерферона является интегральной частью иммунной системы и обеспечивает координацию пролиферации, дифференцировки и активации эффекторных клеток иммунитета. В процессе иммунного ответа ИФН выполняет роль короткодистантных медиаторов межклеточных взаимодействий. ИФН определяет эффективность иммунного распознавания антигенов, влияя на экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости I и II классов, а также карциноэмбриональных и опухолевых антигенов. ИФН играют определяющую роль в процессах элиминации антигенноизмененных своих и чужеродных клеток, являясь основными активаторами цитолитических и фагоцитирующих эффекторов иммунитета: ИФН- $\gamma$  является незаменимым фактором дифференцировки В-лимфоцитов.

ВИЧ-инфекция сопровождается глубокими нарушениями в системе ИФН. Дефекты в системе ИФН прослеживаются на каждой из клинических стадий, но их характер и глубина совершенно различны.

ВИЧ обладает интерферогенными свойствами, обусловленными наличием в лидерной последовательности РНК 3'-LTR до промотора SP-6 двойной спирали, состоящей из 40 пар нуклеотидов. Эта особенность генома ВИЧ указывает также на потенциальную чувствительность вируса к индуцируемому ИФН классическим противовирусным механизмам. Однако под действием ИФН не происходит полного подавления продукции ВИЧ. В этом отношении ретровирусы принципиально отличаются от других вирусов. При действии ИФН активность обратной транскриптазы и синтез вирусных белков снижаются только на 70%. В клинических наблюдениях были в основном

подтверждены экспериментальные данные о неполном подавлении ВИЧ при лечении экзогенным ИФН. При ежедневном подкожном введении 35.000.000 МЕ рекомбинантного ИФН- $\alpha$  в течение 8–12 недель больным у них отмечено значительное, а некоторых даже полное подавление вирусных антигенов в циркуляции. Однако какого-либо влияния ИФН-терапии на динамику циркулирующих антител ВИЧ обнаружено не было, что подтверждает персистенцию инфекции.

У здоровых лиц ИФН в сыворотке, как правило, не обнаруживается или циркулирует в предельно низких титрах. При различных вирусных инфекциях, а также онкологических и аутоиммунных заболеваниях ИФН в сыворотке появляется постоянно, причем титр его нарастает параллельно тяжести заболевания. Циркулирующий ИФН, как правило, относится к  $\alpha$ -типу, но по крайней мере часть циркулирующего ИФН отличается необычным свойством – кислотоллабильностью. Присутствие кислотоллабильного ИФН- $\alpha$  в циркуляции у больных с ВИЧ-инфекцией было установлено уже на ранних этапах исследования инфекции: он обнаруживался у 60–80% больных с генерализованной лимфаденопатией и клинически выраженным СПИДом. Титр циркулирующего кислотоллабильного ИФН- $\alpha$  нарастал по мере увеличения клинической тяжести инфекции: на стадии генерализованной лимфаденопатии титр в среднем равен 7,7 МЕ/мл, а при проявлении клинических симптомов терминальной стадии – 28,7 МЕ/мл. В других наблюдениях было показано, что увеличение титра циркулирующего ИФН коррелировало с гематологическими симптомами иммунодефицита. Обратная корреляция прослеживается с общим числом лимфоцитов и с субпопуляцией Т-хелперов, и прямая – с концентрацией IgA в сыворотке. По данным многих исследований, появление циркулирующего в крови кислотоллабильного ИФН- $\alpha$  обнаруживается в среднем за 6,5 месяцев до клинических симптомов ВИЧ-инфекции и может служить наиболее ранним прогностическим показателем.

Однако кислотоллабильный ИФН- $\alpha$  обнаруживался только у 65–70% больных. Остальные серопозитивные больные не имели этого диагностического признака. Этот факт до настоящего времени не получил объяснения и заслуживает специального исследования.

Другой особенностью ВИЧ-инфекции, которая тоже имеет диагностическое значение, является присутствие в циркуляции ингибитора (или инактиватора) ИФН. Известно, что в физиологической норме в сыворотке периферической крови могут обнаруживаться ингибиторы ИФН типа 1 ( $\alpha$  и  $\beta$ ). При вирусной инфекции частота их выявления существенно возрастает. При изучении сыворотки больных ВИЧ-инфекцией, осложненной саркомой Капоши, ингибитор выявлен у 80%, причем у двух третей из них его титр был достаточен для инактивации более 50 МЕ/мл ИФН- $\alpha$ . Вместе с тем в другой группе больных с саркомой Капоши, не имевших диагностических признаков ВИЧ-инфекции, ни у одного больного ингибитора в сыворотке не было. Не выявлялся ингибитор и у больных с лимфоаденопатией. Таким образом, циркулирующий ингибитор ИФН типа 1 может являться диагностическим признаком, проявляющимся на III стадии ВИЧ-инфекции.

Взаимодействие ИФН с клеткой осуществляется через специфические рецепторы с исключительно высоким аффинитетом. Иммунобиологические эффекты ИФН реализуются только через рецепторы. ИФН типа 1 имеют общий рецептор, распознающая часть является ганглиозидом. Экспрессия рецепторов на клетке подвержена функциональным изменениям и подавляется под действием ИФН. Постоянное присутствие кислотолабильного ИФН- $\alpha$  в циркуляции при ВИЧ-инфекции приводит к подавлению экспрессии клеточных рецепторов к ИФН типа 1, в то же время экспрессия рецепторов к ИФН типа 2 на всех клинических стадиях не изменяется.

Биологические эффекты ИФН обусловлены специфическими изменениями в метаболизме клетки. Известно, что под действием ИФН в цитоплазме появляется более 20 новых белков. Наиболее изученным ИФН-зависимым ферментом является 2',5'-олиго(A)-синтетаза, которая активируется всеми 3 видами ИФН ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) в присутствии двуспиральной РНК по крайней мере из 20 нуклеотидов. Под действием этого фермента на основе АТФ синтезируется ряд коротких полиаденилатов, соединенных необычной 2'-5'-фосфо-диэфирной связью. 2',5'-олигоаденилаты являются сильными активаторами

клеточных эндонуклеаз, в частности РНКазы L. Активация эндонуклеаз предотвращает считывание вирусной информации.

При ВИЧ-инфекции отмечены деформации в системе 2',5'-олиго(А) синтетазы. У больных на стадии генерализованной лимфаденопатии активность этого фермента значительно возрастает, а при осложнении оппортунистическими инфекциями или саркомой Капоши достигает максимальных значений. При этом повышенный фон активности 2',5'-олиго(А) синтетазы сопровождается снижением чувствительности фермента к активирующему действию ИФН.

У больных ВИЧ-инфекцией описан дефект и в другом звене 2',5'-олиго(А) синтетазы – на уровне РНКазы L. Уже на стадии генерализованной лимфаденопатии активность этого фермента была в среднем на 55% ниже, чем у здоровых доноров.

Таким образом, глубина деформаций системы ИФН возрастает параллельно утяжелению клинических проявлений инфекции. На стадии сероконверсии основным дефектом, имеющим прогностическое значение, является появление в сыворотке периферической крови больного кислотолабильного ИФН-α. Циркулирующий ИФН неизбежно приводит к подавлению экспрессии клеточных рецепторов к ИФН типа 1 и постоянному повышенному уровню активности 2',5'-олиго(А) синтетазы. На стадии генерализованной лимфаденопатии указанные дефекты продолжают углубляться и начинает проявляться рефрактерность клеток крови к продукции ИФН-α в ответ на вирусную или антигенную индукцию. Одновременно (а может быть и вследствие этого) снижается цитолитическая активность натуральных киллеров в отношении ВИЧ-инфицированных клеток. Снижается активность РНКазы L. На терминальной стадии депрессия системы ИФН еще больше нарастает, в сыворотке появляется ингибитор/инактиватор ИФН-α.

В целом, провоспалительные цитокины способствуют возникновению серьезных патологических изменений – кахексии, сепсису, нарушениям мозговой деятельности, которые характерны для поздних стадий ВИЧ-инфекции. Мишеней для действия цитокинов как сигнальных молекул в организме множество, и влияние на них со стороны цитокинов обуславливает лихорадку, изменение настроения, депрессию,

развитие анемии, микрососудистой патологии, нарушение функций желудочно-кишечного тракта и легких. Все это свидетельствует о многогранности влияния цитокинов на патогенез ВИЧ-инфекции.

Изменение синтеза цитокинов и дисрегуляция иммунного ответа при ВИЧ-инфекции приводят к усилению вирусной репликации и к развитию иммунодефицита в дальнейшем. Изучение продукции цитокинов *in vivo* является чрезвычайно важным для понимания механизмов развития иммунодефицита.

### **Контрольные вопросы**

1. Какие клетки человеческого организма восприимчивы к ВИЧ?
2. Какие механизмы центрального патогенетического звена реализуются при ВИЧ-инфекции?
3. Где образуются резервуары латентной ВИЧ-инфекции?
4. Какие изменения цитокиновой регуляции наблюдаются при острой и хронической формах ВИЧ-инфекции?
5. Как реализуются механизмы апоптоза при ВИЧ-инфекции?
6. Что характеризует функциональную активность В-лимфоцитов при острой и хронической ВИЧ-инфекции?
7. Какие изменения наблюдаются в гуморальном звене иммунитета при ВИЧ-инфекции?
8. Какие наблюдаются наиболее частые исходы антигенной активации В-клеток при ВИЧ-инфекции?

## **Глава 2. Лабораторная диагностика ВИЧ-инфекции**

### **2.1. Принципы лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции**

Лабораторная диагностика при ВИЧ-инфекции направлена на решение ряда основных задач:

- 1) проведение скрининговых исследований с последующим подтверждением результатов для определения ВИЧ-статуса пациента;
- 2) иммунологический и вирусологический мониторинг ВИЧ-инфицированных, состоящих на диспансерном учете и получающих ВААРТ;
- 3) определение резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам;
- 4) установление ВИЧ-статуса детей, рожденных ВИЧ-инфицированными матерями;
- 5) серологическая и молекулярная диагностика сопутствующих ВИЧ-инфекции заболеваний – гепатитов и оппортунистических инфекций;
- 6) контроль качества лабораторных исследований.

Для решения этих задач в Российской Федерации создана большая нормативная база: медицинское освидетельствование пациентов для выявления ВИЧ-инфекции опирается на официальные документы.

Обследование на ВИЧ-инфекцию проводится добровольно, за исключением случаев, когда оно является обязательным. Обязательному медицинскому обследованию на ВИЧ-инфекцию подлежат: доноры крови, плазмы крови, спермы и других биологических жидкостей, тканей и органов, а также беременные в случае забора абортной и плацентарной крови для производства биологических препаратов при каждом взятии донорского материала; медицинский персонал учреждений здравоохранения, специализированных отделений и структурных подразделений, занятый непосредственным обследованием, диагностикой, лечением, обслуживанием, а также проведением судебно-медицинской экспертизы и другой работы с лицами, инфицированными ВИЧ; работники научно-исследовательских учрежде-



ний по изготовлению медицинских иммунобиологических препаратов и других организаций, работа которых связана с материалами, содержащими вирус иммунодефицита человека; медицинские работники в стационарах (отделениях) хирургического профиля при поступлении на работу и в дальнейшем 1 раз в год; лица, проходящие военную службу и поступающие в военные учебные заведения и на военную службу по призыву и контракту, при призыве на срочную военную службу, при поступлении на службу по контракту, при поступлении в военные вузы министерств и ведомств, устанавливающих ограничения для приёма на службу лиц с ВИЧ-инфекцией; иностранные граждане и лица без гражданства при обращении за получением разрешения на гражданство или вида на жительство, или разрешения на работу в Российской Федерации, при въезде на ее территорию иностранных граждан на срок более 3 месяцев.

Добровольное тестирование на ВИЧ может быть анонимным.

Лабораторное обследование на ВИЧ выполняют при обязательном согласии пациента. Проведению этого исследования предшествует дотестовое консультирование по вопросам ВИЧ-инфекции. После обследования при любом его исходе проводят послетестовое консультирование.

В настоящее время для лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции используются различные методы обнаружения ВИЧ, основанные на выявлении антигенов и антител к ВИЧ, а также генетического материала вируса. Все методы обладают различной эффективностью, чувствительностью и специфичностью, а результаты требуют грамотной интерпретации.

Согласно нормативным документам, в России принят следующий диагностический алгоритм тестирования на наличие антител к ВИЧ.

1. На первом этапе исследование проводится в скрининговой лаборатории. Если получен положительный результат в ИФА, анализ проводится последовательно еще два раза (с той же сывороткой и в той же тест-системе, вторая сыворотка запрашивается только в случае невозможности направления для дальнейшего исследования первой сыворотки). Если получены два положительных результата из трех

постановок в ИФА, сыворотка считается первично положительной и направляется в референс-лабораторию (Лаборатория диагностики ВИЧ-инфекции центра по профилактике и борьбе со СПИДом) для дальнейшего исследования.

2. На втором этапе исследование проводится в референс-лаборатории. Первично положительная сыворотка повторно исследуется в ИФА во второй тест-системе другого производителя, отличающейся от первой по составу антигенов, антител или формату тестов. При получении отрицательного результата сыворотка повторно исследуется в третьей тест-системе другого производителя, отличающейся от первой и второй по составу антигенов, антител или формату тестов. В случае получения отрицательного результата (во второй и третьей тест-системах) выдается заключение об отсутствии антител к ВИЧ. При получении положительного результата (во второй и/или третьей тест-системе) сыворотку необходимо исследовать в иммунном или линейном блоте. Результаты, полученные в подтверждающем тесте, интерпретируются как положительные, неопределенные и отрицательные.

Для обеспечения контроля и учета исследований референс-диагностика должна осуществляться в том же субъекте Российской Федерации, где проводилось скрининговое обследование, в лаборатории, уполномоченной для проведения диагностических, лечебных, профилактических и противоэпидемических мероприятий по ВИЧ-инфекции и сопутствующим заболеваниям. Референс-диагностика может проводиться также во ФГУН, на базе которых функционируют федеральный и окружные центры по профилактике и борьбе со СПИДом, и в ФГУ Республиканская клиническая инфекционная больница (г. Санкт-Петербург).

Тесты для лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции подразделяются на диагностические и тесты для наблюдения за течением заболевания. К первой группе относятся скрининговые и подтверждающие тесты, а также тест для определения провирусной ДНК ВИЧ. Ко второй группе относятся тесты для определения РНК ВИЧ (ВН), иммунного статуса, исследования лекарственной резистентности (генотипирование и фенотипирование ВИЧ).

## 2.2. Диагностические тесты

Обнаружение антител к ВИЧ включает два этапа. На первом этапе проводят выявление суммарного спектра антител против антигенов ВИЧ с использованием различных тестов, обычно иммуноферментных. На втором этапе методом иммунного блоттинга определяют антитела к отдельным антигенам вируса. Заключение о наличии или отсутствии в исследуемом образце антител к ВИЧ делают на основании результатов второго этапа.

Скрининговые диагностические тесты направлены на выявление антигена и антител к ВИЧ. К ним относятся иммуноферментный анализ (ИФА) и простые быстрые тесты.

ИФА – наиболее распространенный метод для проведения таких исследований. В основе ИФА лежит связывание иммобилизованных на микропланшетах вирусных антигенов с антителами, содержащимися в сыворотке крови пациента, с последующим выявлением комплекса антиген-антитело с помощью антивидовых антител, конъюгированных с ферментной меткой. Антигены диагностических тест-систем представляют собой очищенные антигены из вирусных лизатов либо рекомбинантные антигены или синтетические пептиды.

Существуют несколько поколений тестов ИФА. Тест-системы 1-го поколения в качестве иммуносорбента содержат очищенный лизат ВИЧ. Они позволяют выявлять все присутствующие антитела, поэтому обладают гиперчувствительностью и дают большой процент ложноположительных результатов. Тест-системы 2-го поколения содержат рекомбинантные белки и/или синтетические пептиды, а 3-го поколения – комбинацию антигенов ВИЧ-1 и ВИЧ-2 в качестве конъюгата. Рекомбинантные и пептидные тест-системы более специфичны, но менее чувствительны по сравнению с лизатными. Очевидно, что использование в тест-системах и вирусного лизата, и рекомбинантных антигенов и/или синтетических пептидов повышает чувствительность и специфичность тест-систем.

В настоящее время эффективность диагностики повысилась за счет использования тест-систем 4-го поколения, позволяющих выяв-

лять не только антитела, но и антиген (Аг/Ат комбинированные тесты). В таких тест-системах в качестве иммуносорбента используются антигены ВИЧ и антитела к капсидному белку р24. Применение тест-систем 4-го поколения позволяет сократить период «серологического окна» до трех недель.

Чувствительность тест-систем отражает вероятность, с которой можно определить наличие исследуемого вещества (антигена, антитела) в образце. Специфичность отражает вероятность того, что будет обнаружено именно требуемое вещество, а не какой-то другой компонент. ИФА обладает высокой чувствительностью (более 99,5%), но меньшей специфичностью, что делает возможным очень редкое получение ложных результатов.

Антитела к ВИЧ появляются у 90–95% инфицированных в течение 3 месяцев, у 5–9% – через 6 месяцев от момента заражения, у 0,5–1% – в более поздние сроки. Наиболее ранний срок обнаружения антител – 4 недели от момента заражения.

Серологическая диагностика ВИЧ-инфекции у детей, рожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, имеет свои особенности. Как у зараженных, так и у незараженных детей в первые 6–12 (иногда до 18) месяцев жизни обнаруживаются антитела к ВИЧ материнского происхождения. У незараженных детей эти антитела исчезают, а у зараженных начинают вырабатываться собственные. Критерием, свидетельствующим о наличии у ребенка ВИЧ-инфекции, служит обнаружение у него антител к ВИЧ в возрасте старше 18 месяцев. Отсутствие антител к ВИЧ у ребенка в возрасте старше 12 месяцев, рожденного от инфицированной ВИЧ матери, свидетельствует против наличия у него ВИЧ-инфекции (если он не получал грудного вскармливания).

При обследовании пациента на ВИЧ-инфекцию методом ИФА возможно получение ложноотрицательных результатов. Это возможно в период «серологического окна» при недавнем инфицировании: уровень антител в этом случае еще очень низкий и чувствительность тест-систем недостаточна для их выявления. Ложноотрицательные результаты могут наблюдаться и в терминальной стадии, когда

наблюдается глубокое поражение иммунной системы с нарушением процесса образования антител.

Ложноположительные результаты ИФА регистрируются при наличии в сыворотке антител к аутоантигенам HLA II класса и другим аутоантигенам, болезнях печени, онкологических заболеваниях, после вакцинации.

Простые быстрые тесты позволяют выявлять антитела к ВИЧ без использования специального оборудования и в короткие сроки – 10-30 минут. Такие экспресс-тесты используются в небольших лабораториях при рутинной диагностике, во время экстренных хирургических вмешательств, для тестирования беременных женщин в предродовом периоде при отсутствии у них сведений о предшествующем обследовании на ВИЧ-инфекцию, в целях постконтактной профилактики ВИЧ-инфекции в случае аварийной ситуации. Результаты простых быстрых тестов используются только для своевременного принятия решений в экстренных ситуациях.

Простые быстрые тесты основаны на методе иммунохроматографии и представляют собой тест-полоски с иммобилизованными рекомбинантными антигенами и синтетическими пептидами ВИЧ-1 и ВИЧ-2. Большинство тестов имеют 100% чувствительность и специфичность более 99%, однако в период «серологического окна» они могут давать ложноотрицательные результаты.

Каждое исследование на ВИЧ с применением простых быстрых тестов должно сопровождаться обязательным параллельным исследованием той же порции крови классическими методами ИФА и иммунного блоттинга. Выдача заключения о наличии или отсутствии ВИЧ-инфекции только по результатам простых быстрых тестов не допускается.

Подтверждающие диагностические тесты используются для подтверждения специфичности положительных результатов, полученных в ИФА. В их основу положен метод иммунного блоттинга. Его принцип заключается в выявлении антител к индивидуальным белкам ВИЧ, иммобилизованным на нитроцеллюлозной мембране с последующим проявлением реакции в виде полос. На носитель в за-

в зависимости от производителя наносятся следующие антигены: белки оболочки Env (gp160, gp120, gp41), белки сердцевины Gag (p55, p24, p18), ферменты Pol (p65, p51, p31), антигены ВИЧ-2. В зависимости от присутствия в образце специфических антител, реагирующих с индивидуальными антигенами ВИЧ, получаются разные профили полос. Комбинация и интенсивность окрашивания полос позволяют сделать вывод о результате исследования.

Положительными считаются пробы, в которых обнаруживаются антитела к двум из трех гликопротеинов ВИЧ (Env, Gag, Pol); отрицательными – сыворотки, в которых не обнаруживаются антитела ни к одному из антигенов ВИЧ или имеется слабое реагирование с белком p18. Неопределенными (сомнительными) считаются сыворотки, в которых обнаруживаются антитела к одному гликопротеину и/или каким-либо протеинам ВИЧ. При получении неопределенного результата с белковым профилем, включающим белки сердцевины Gag p25, проводится исследование для диагностики ВИЧ-2.

При получении отрицательного и сомнительного результата в иммунном или линейном блоте рекомендуется исследовать сыворотку в тест-системе для определения p24 антигена или ДНК/РНК ВИЧ. Если был выявлен антиген p24 или ДНК/РНК ВИЧ, повторное обследование в иммунном или линейном блоте проводится через 2, 4, 6 недель после получения первого неопределенного результата. При получении неопределенного результата проводятся повторные исследования на антитела к ВИЧ иммунном или линейном блоте через 2 недели, 3 и 6 месяцев. Если получены отрицательные результаты в ИФА, то дальнейшее исследование не требуется. Если через 6 месяцев после первого обследования вновь будут получены неопределенные результаты, а у пациента не будут выявлены факторы риска заражения и клинические симптомы ВИЧ-инфекции, результат расценивается как ложноположительный.

Отрицательный результат при наличии клинических и эпидемиологических подозрений на ВИЧ-инфекцию не отвергает возможность данного заболевания. Это связано с особенностями сероконверсии в инкубационном периоде и в терминальной стадии.

Метод определения провирусной ДНК относится к молекулярно-биологическим и определяет не иммунную реакцию на развитие ВИЧ-инфекции, а генетический материал возбудителя. В его основе лежит метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), имитирующей естественную репликацию ДНК. Несмотря на высокую чувствительность (1-10 копий ДНК), этот метод не используется для диагностики ВИЧ без серологического подтверждения. Тестирование пациентов на ДНК ВИЧ проводится при сомнительном результате ИБ, выявлении ВИЧ-инфекции в периоде «серологического окна», а также у детей до 18 месяцев, рожденных от ВИЧ-инфицированных матерей в связи с наличием у них материнских антител.

Получение положительных результатов обследования на ДНК ВИЧ или РНК ВИЧ в двух отдельно взятых образцах крови у ребенка старше одного месяца является лабораторным подтверждением диагноза ВИЧ-инфекции. Получение двух отрицательных результатов обследования на ДНК ВИЧ или РНК ВИЧ в возрасте 1–2 месяцев и 4–6 месяцев (при отсутствии грудного вскармливания) свидетельствует против наличия у ребенка ВИЧ-инфекции, однако снятие ребенка с диспансерного учета по поводу интранатального и перинатального контакта по ВИЧ-инфекции может производиться в возрасте старше 1 года.

### **2.3. Алгоритм лабораторного мониторинга пациентов с ВИЧ-инфекцией**

Иммунологический и вирусологический мониторинг при ВИЧ-инфекции имеют определяющее значение для установления стадии заболевания, прогноза развития инфекции, контроля эффективности ВААРТ.

Исходя из описанных выше особенностей иммунопатогенеза ВИЧ-инфекции, для оценки характера развившегося иммунодефицита у всех пациентов, находящихся на диспансерном наблюдении, проводится оценка субпопуляций Т-клеток, в первую очередь CD4+Т-лимфоцитов. Прогрессивное уменьшение количества CD4+Т-лимфоцитов обуславливает развитие вторичных заболеваний. Это самый надежный прогностический показатель темпа прогрессирования заболева-

ния и критерий для принятия решения о назначении ВААРТ и профилактики оппортунистических инфекций. Чем длительнее период времени от сероконверсии ВИЧ до снижения иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+), тем вероятнее медленное прогрессирование ВИЧ-инфекции.

Исследование клеточных субпопуляций проводится методом проточной цитометрии. В цитометре клетки крови проходят через лазерный луч, при этом анализатор измеряет параметры светорассеяния и флюоресценции. По величине сигнала прямого светорассеяния судят о размере клетки, бокового светорассеяния – о ее гранулярности. В реакционную смесь перед проведением исследования вносят моноклональные антитела, меченные флюорохромами. По параметрам флюоресценции, получаемой при соединении меченого антитела с антигеном клетки крови, судят о наличии у клеток определенных CD (кластер дифференцировки), а значит, о субпопуляции.

Наиболее информативным методом проточной цитометрии является анализ с использованием четырехцветной панели моноклональных антител в одноплатформенном методе определения абсолютного количества CD4+Т-лимфоцитов. Одноплатформенный метод исключает дополнительное использование гематологического анализатора для определения процентного содержания лимфоцитов. Именно этот показатель является наиболее трудноизмеримым у тяжелых пациентов с лимфопенией и ранее всего страдает при старении образцов крови. Двухплатформенный метод с изолированным определением процентного содержания лимфоцитов на гематологическом анализаторе также возможен.

Метод проточной цитометрии, как и любой другой, имеет свои ограничения. Так, абсолютные значения субпопуляций Т-клеток, полученные в разных лабораториях, не должны сравниваться, поскольку они сильно зависят от выбранных методов. Пробы крови должны быть исследованы в течение 6 часов после их получения в случае использования двухплатформенного метода; охлаждение или замораживание не допускаются. Искажение результатов может наблюдаться в случае присутствия в крови бластов и ядерных эритроцитов, при



назначении пациентам кортикостероидной терапии, при миелофиброзе, сфероцитозе.

Нормальное значение уровня CD4+Т-лимфоцитов составляет 800–1050 кл/мкл. У взрослых пациентов, находящихся в латентной стадии заболевания, уровень CD4+Т-лимфоцитов обычно превышает 500 кл/мкл. Стойкое падение CD4+Т-клеток ниже этого уровня приводит к переходу ВИЧ-инфекции в стадию 4А, снижение ниже 350 кл/мкл – в стадию 4Б, снижение ниже 200 кл/мкл – в стадию 4В. Дальнейшее прогрессирование иммунодефицита ведет к уменьшению показателя ниже 50 кл/мкл вплоть до полного их исчезновения. Указанные цифры носят ориентировочный характер, поскольку снижение количества CD4+Т-лимфоцитов несколько опережает клиническое прогрессирование заболевания. С другой стороны, иногда пациенты с количеством CD4+Т-лимфоцитов менее 20 кл/мкл живут в течение нескольких лет.

Оценка динамики уровня CD4+Т-лимфоцитов в процессе лечения является критерием его эффективности. Увеличение их количества либо отсутствие достоверного снижения (более чем на 30%) через 4 недели после начала ВААРТ может говорить о ее эффективности.

При интерпретации результатов у детей младше 6 лет следует учитывать возрастные особенности. Абсолютные и относительные показатели CD4+Т-лимфоцитов у неинфицированных детей выше, чем у неинфицированных взрослых. Показатели постепенно снижаются и к 6 годам достигают нормы взрослых. Хотя абсолютные показатели изменяются с возрастом, относительные значения остаются более постоянными.

При динамическом наблюдении количество CD4+Т-лимфоцитов определяют при первичном осмотре, затем каждые 6 месяцев – при уровне более 500 кл/мкл или каждые 3 месяца – при уровне менее 500 кл/мкл (до назначения ВААРТ). После начала ВААРТ определение уровня CD4+Т-лимфоцитов проводят через 1 и 3 месяца после начала приема препаратов, затем каждые 3 месяца в течение первого года. Если через 1,5 года после начала лечения у пациента в течение не менее 6 месяцев отсутствуют клинические проявления вторичных заболеваний, а в двух последних исследованиях, проведенных с ин-

тервалом в три месяца, уровень CD4+Т-лимфоцитов более 500 кл/мкл, исследования можно проводить с интервалом в 6 месяцев. Значимым считается изменение абсолютного количества клеток на 30% и изменение относительного – на 3%. У пациентов, не получающих ВААРТ, количество CD4+Т-лимфоцитов снижается в среднем на 4% в год на каждый Ig РНК ВИЧ.

На фоне ВААРТ через 4–8 недель после максимального снижения ВН ВИЧ количество CD4+Т-лимфоцитов увеличивается на 50 кл/мкл, а затем повышается еще на 50-100 кл/мкл в течение года. При исходной высокой ВН и низком количестве CD4+Т-клеток обычно наблюдается более выраженный эффект на терапию. Несмотря на хороший вирусологический ответ, повышение количества лимфоцитов может начаться в более поздние сроки. Прирост их количества обычно коррелирует со степенью подавления ВН, но не всегда. В клинических стандартах DHHS (Министерство здравоохранения и социальных служб США) иммунологическая неудача определяется как отсутствие прироста CD4+Т-клеток по крайней мере на 25–50 кл/мкл через 1 год от начала ВААРТ. После прекращения терапии их количество быстро снижается.

Другим тестом для динамического наблюдения за ВИЧ-инфекцией является определение ВН ВИЧ молекулярно-генетическими методами, то есть количественное определение концентрации вируса в крови. Существуют три основных способа определения ВН: ПЦР, метод разветвленной ДНК, метод изотермальной амплификации (NASBA). В России наиболее широко используется метод ПЦР.

Суть метода заключается в многократном копировании (амплификации) в пробирке определенных участков нуклеиновой кислоты в процессе повторяющихся температурных циклов. На каждом цикле амплификации синтезированные ранее фрагменты вновь копируются ДНК-полимеразой. Результатом циклического процесса является экспоненциальное увеличение количества специфического фрагмента ДНК, детектируемое автоматически.

В зависимости от тест-системы минимальное детектируемое количество вирусных частиц составляет 20-500 копий/мл. При интер-

претации результатов следует учитывать, что различия менее 0,3–0,5 lg (в 2–3 раза) считаются допустимыми. На основании ВН в крови нельзя судить о ВН в других тканях.

После начала ВААРТ наблюдается быстрое снижение ВН в течение 1–4 недель, отражающее действие лекарственных препаратов как на свободные вирионы в плазме, так и на ВИЧ в первично инфицированных клетках. Далее следует второе более длительное снижение ВН в течение нескольких месяцев, что отражает влияние препаратов на макрофаги и высвобождающиеся из других резервуаров вирионы. Максимальный эффект наступает через 4–6 месяцев. ВН в большей степени отражает эффективность ВААРТ, тогда как уровень CD4+Т-лимфоцитов прогнозирует клиническое прогрессирование заболевания. При эффективной терапии следует ожидать снижения ВН на 1,5–2 lg копий/мл через 4 недели и до неопределяемого уровня – через 24–48 недель.

ВН необходимо измерять на фоне стабильного клинического состояния не ранее чем через 4 недели после вакцинации или перенесенной инфекции. ВН определяют каждые 3–4 месяца на фоне ВААРТ. При уровне ВН менее 50 копий/мл не происходит формирования резистентных вариантов вируса, так как нет активной репликации. Небольшие кратковременные подъемы значения ВН до 200 копий/мл могут наблюдаться без развития устойчивых вариантов и свидетельствуют, как правило, о погрешностях в приеме препаратов. Постоянно высокий уровень ВН более 50 копий/мл свидетельствует о вирусологической неудаче терапии. У детей, инфицированных перинатально, дольше сохраняются высокие уровни виремии.

Определение резистентности ВИЧ к антиретровирусным препаратам позволяет выявить причину неэффективности проводимой терапии и подобрать оптимальную комбинацию препаратов для каждого пациента индивидуально. В основе возникновения феномена лекарственной устойчивости (ЛУ) лежат мутации, появляющиеся в геноме вируса в ходе естественного процесса матричного синтеза, как и любые другие мутации. Пока пациент не получает ВААРТ, они существуют в небольшом количестве, не оказывая влияния на вирусную

популяцию в целом. Это связано с тем, что формирование мутаций ЛУ приводит к снижению фитнеса вируса.

Фитнес – это способность к размножению вируса в чувствительном организме, которое зависит от многих факторов со стороны вируса, со стороны хозяина, а также от активности лекарственного препарата. Таким образом, фитнес отражает состояние вирусной популяции в меняющихся и разнообразных условиях *in vivo*. Мутации резистентности чаще всего возникают в области активных центров ферментов – протеазы, обратной транскриптазы, интегразы, и поэтому в большинстве своем снижают фитнес, то есть такой вирус размножается гораздо хуже и проигрывает в борьбе за выживание «дикому» варианту. Их количество незначительно и не выявляется рутинными методами. Такая картина сохраняется до тех пор, пока пациент не получает лечения. Воздействие лекарственного препарата меняет картину на противоположную. Если в вирусной популяции существует часть резистентных вариантов, то они получают селективное преимущество, поскольку могут размножаться в условиях лекарственного пресса. Лекарственный препарат в этих условиях становится главным фактором эволюционного отбора. Таким образом, лекарственный препарат сам по себе мутаций не создает. Мутации ЛУ отбираются на фоне ВААРТ из существующего разнообразия всех генетических вариантов.

Приобретение вирусом устойчивости на практике приводит к повышению уровня ВН после первоначального снижения, хотя и не приводит к большим цифрам. Поэтому сохранение у пациента высоких цифр ВН свидетельствует скорее о серьезных нарушениях в приеме лекарств, чем о развитии истинной резистентности.

Заподозрить ЛУ можно по следующим признакам: 1) отсутствие снижения ВН через 24 недели после начала лечения; 2) два последовательно возрастающих результата определения ВН.

Существуют две основные группы методов определения мутаций ЛУ – фенотипические и генотипические. Фенотипические методы используют прямой подход к изучению чувствительности ВИЧ к препаратам ВААРТ. Эти методы являются «золотым стандартом» в

исследовании резистентности. «Дикий» и исследуемый вирусы культивируются вместе в культуре клеток в присутствии лекарственных препаратов в различных разведениях. Степень устойчивости ВИЧ определяется при сравнении результатов культивирования. Очевидно, что в условиях клинической лаборатории эта группа методов неприменима. Кроме того, это дорогие и очень длительные (2–4 недели) методики. Генотипические методы основаны на исследовании генома ВИЧ и выявлении ассоциированных с резистентностью мутаций с помощью привлечения баз данных. Эти методы сравнительно более дешевы, быстры (3–5 дней) и просты в применении, однако менее чувствительны. Генотипирование позволяет выявлять мутантные варианты, только если их доля в общей популяции вируса составляет более 20%. Выявление мутаций достигается генотипированием целого генома или отдельных значимых генов (pol, env, петля V<sub>3</sub>). Среди генетических тестов существует несколько разновидностей – секвенирование генома (рис. 5.), технология микрочипов, LiPA-тест.

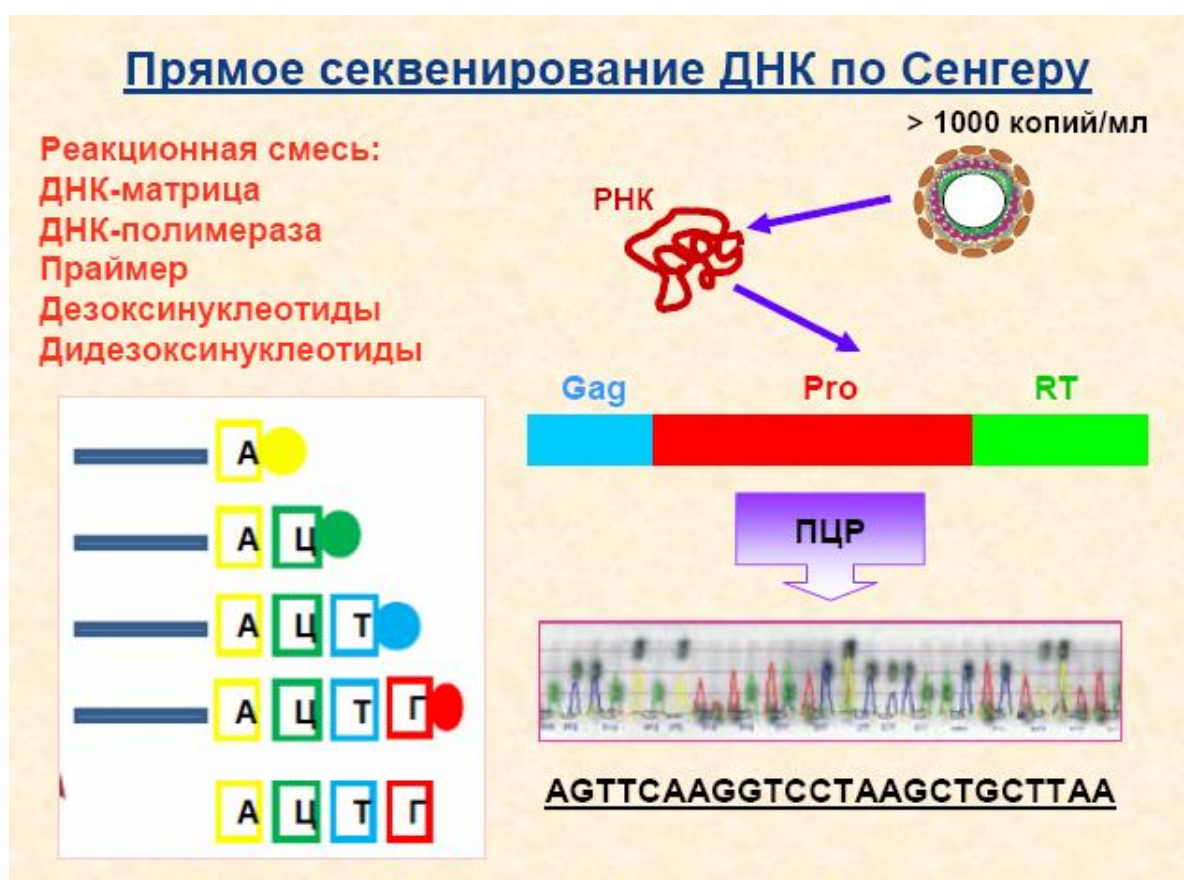


Рис. 5. Схема прямого секвенирования по Сенгеру  
(Бобкова, 2014)

На территории Российской Федерации наиболее широко используется метод циклического секвенирования по Сенгеру. В результате определяются мутации резистентности к НИОТ, ННИОТ и ИП. Распространение также получает определение мутаций резистентности к ингибиторам интегразы (ИИ). Отдельно также выполняется исследование петли V<sub>3</sub> gp 120 для определения тропизма ВИЧ, когда больному требуется назначить антагонисты ССR5-корцептора (маравирик). Как упоминалось выше, ВИЧ-1 использует для связи с Т-лимфоцитами не только CD4+-рецептор, но и корцепторы ССR5 и CXCR4. Если популяция вируса CXCR4-тропна, то смысла назначать маравирик нет.

Метод циклического секвенирования был разработан Ф. Сенгером в 70-х годах XX века. Он сильно напоминает ПЦР. Принципиальное отличие состоит в том, что в состав реакционной смеси наряду с компонентами, обычными для ПЦР, входят меченые дидезокситрифосфаты (ddNTPs).

Они присоединяются к последнему нуклеотиду строящейся в ходе реакции цепочки, однако не способны к дальнейшему построению цепи, и синтез нуклеотидной последовательности обрывается. Этот процесс называется терминацией. В результате циклической реакции синтезируются все варианты фрагментов ДНК, отличающиеся по длине на один нуклеотид. Далее происходит электрофорез в электрическом поле с помощью прибора генетического анализатора, в котором нуклеотидные цепочки разделяются по длине. Специальное программное обеспечение объединяет отдельные цепочки в единую консенсусную последовательность, которая обрабатывается другой программой. В результате получается 4-буквенный текст (аденин, гуанин, тимин, цитозин), описывающий последовательность генома ВИЧ в исследуемой области. Полученная консенсусная последовательность сравнивается с референсной последовательностью в базе данных. В результате проведения теста на резистентность генерируется отчет, содержащий информацию о выявленном генотипе и уровне его совпадения с референсной последовательностью в процентах, наличии или отсутствии вставок, делеций, сдвигов рамок

считываний, стоп-кодонах в изучаемой последовательности. Для ферментов отдельно описываются основные, минорные и прочие (полиморфизмы) мутации и перечисляются все препараты из этой фармакологической группы с оценкой возможности их использования при данном генетическом профиле. Для оценки чувствительности вируса к препаратам установлены пять степеней: чувствительный, возможная низкая устойчивость, низкая устойчивость, промежуточная устойчивость, высокая устойчивость.

Существуют рекомендации международных комиссий в области тестирования резистентности ВИЧ-1 (табл. 1). Во всех рекомендациях четко прописана необходимость обследовать на резистентность наивных пациентов в связи с возможностью заражения первично устойчивым вариантом вируса. «Недавнее заражение» подразумевает, что известно время инфицирования и срок заболевания при этом составляет до 1 года. Именно такую продолжительность имеет средний срок реверсии резистентного варианта к «дикому» типу. Если с момента заражения прошло больше года, то вероятность обнаружить у пациента мутантный вариант крайне мала: в этом случае он присутствует как минорный и стандартными методами не выявляется. Таким образом, исследование резистентности в этой категории пациентов является обязательным.

При хронической ВИЧ-инфекции причины необходимости проведения анализа на резистентность в принципе те же, но с поправкой на возможность суперинфекции и, как следствие, последующей рекомбинации, с одной стороны, и естественный ход эволюции вируса, с другой.

Согласно рекомендациям ВОЗ, исследование на резистентность до начала терапии обязательно в тех странах, где частота передающейся устойчивости составляет 10% и более. В Российской Федерации систематический мониторинг по оценке передающейся резистентности не проводился, но согласно небольшому количеству региональных исследований, составляет он примерно 1,5–3%.

При проведении постконтактной профилактики анализ резистентности может быть полезен в будущем. Во-первых, в этом случае точно

известно время заражения, а значит, инфицированный человек подпадает под категорию наивных пациентов с недавним заражением и должен быть обследован согласно рекомендациям. Во-вторых, анализ резистентности проводится у источника заражения, а результаты в дальнейшем следует учитывать при лечении инфицированного лица.

*Таблица 1*

**Рекомендации международных комиссий в области тестирования резистентности ВИЧ-1**

Показания к тестированию	EACS-2013	BHIVA-2012	IAS-USA-2012	DHHS-2012
Наивные пациенты, недавнее заражение	да	да	да	да
Наивные пациенты, хроническая ВИЧ-инфекция	да	да	да	да
Неуспех терапии	да	да	да	да
Беременность	-	-	-	да
Стратегическое прерывание терапии	да	да	-	-
Постконтактная профилактика	да	-	-	-
ССР <sub>5</sub> -антагонисты	да	да	-	да
ВИЧ-2 инфекция	да	-	-	-

Примечание: «-» – в рекомендациях отсутствуют конкретные указания.

Согласно Протоколам диспансерного наблюдения и лечения ВИЧ-инфекции, в России рекомендовано проведение исследования резистентности ВИЧ при выявлении вирусологической неэффективности ВААРТ, если нет других явных причин для нее, а также перед началом ВААРТ, если известно, что заражение ВИЧ произошло от партнера с неэффективной ВААРТ.

Таким образом, динамическая оценка состояния ВИЧ-инфицированных пациентов включает в себя различные методы клинической лабораторной диагностики и позволяет не только оценивать эффек-



тивность проводимой терапии, но и прогнозировать течение заболевания.

### **Контрольные вопросы**

1. Каковы принципы тестирования на ВИЧ?
2. Сколько этапов в алгоритме тестирования на ВИЧ?
3. Каковы задачи лабораторной диагностики на ВИЧ?
4. Что такое референс-диагностика на ВИЧ?
5. В какие максимально ранние сроки от заражения ВИЧ наблюдается обнаружение антител?
6. Привести лабораторные критерии, свидетельствующие о наличии ВИЧ-инфекции у ребенка, рожденного от ВИЧ-инфицированной женщины?
7. Каковы причины ложноположительного результата ИФА на ВИЧ?
8. Каковы механизмы развития лекарственной устойчивости ВИЧ?

### **Глава 3. Основные принципы лечения ВИЧ-инфекции**

В Протоколах диспансерного наблюдения и лечения ВИЧ-инфекции описаны общие принципы назначения ВААРТ, показания к назначению, используемые схемы и способы замены препаратов.

Лекарственная терапия ВИЧ-инфекции включает в себя базисную терапию (которая определяется стадией заболевания и уровнем CD4+Т-лимфоцитов), а также терапию вторичных и сопутствующих заболеваний. Под базисной терапией понимают терапию, назначение которой определяется стадией и фазой заболевания, а также значением лабораторных маркеров прогрессирования ВИЧ-инфекции (количество CD4+Т-лимфоцитов и уровень РНК ВИЧ). Базисная терапия включает ВААРТ и химиопрофилактику вторичных заболеваний.

В настоящее время основным компонентом лечения больных ВИЧ-инфекцией является ВААРТ, с помощью которой можно добиться контролируемого течения заболевания, то есть состояния, при котором удастся остановить прогрессирование болезни, предотвратить развитие вторичных заболеваний или добиться их регресса, предотвратить потерю трудоспособности (или восстановить ее), увеличить продолжительность жизни пациента.

Основной целью ВААРТ является увеличение продолжительности и сохранение качества жизни пациентов. Дополнительными целями являются:

1) снижение контагиозности пациента, что приводит к снижению риска передачи ВИЧ-инфекции (при половых контактах; от инфицированной ВИЧ женщины ребенку во время беременности, родов и в послеродовом периоде; от ВИЧ-инфицированного пациента медицинским работникам при возникновении аварийной ситуации во время оказания пациенту медицинской помощи);

2) уменьшение финансовых затрат, связанных с госпитализацией, лечением вторичных заболеваний, нетрудоспособностью пациента;

3) снижение демографических потерь, связанных со снижением репродуктивной способности и сокращением репродуктивного периода жизни.

Основной задачей ВААРТ, позволяющей добиться этих целей, является максимальное подавление размножения ВИЧ, что выражается в снижении ВН до неопределяемого уровня.

К принципам АРВТ можно отнести:

1) добровольность – осознанное участие пациента в принятии решения о начале лечения и его проведении, основанное на понимании преимуществ ВААРТ и связанных с ней проблем, выраженное информированным согласием;

2) своевременность – как можно более раннее начало ВААРТ при появлении показаний к ней;

3) адекватность – тщательный выбор лекарственных препаратов с подбором оптимального для данного конкретного пациента их сочетания на основании существующих рекомендаций;

4) непрерывность – постоянный прием антиретровирусных препаратов.

Показания для начала ВААРТ основываются на наличии клинической симптоматики вторичных заболеваний, которая свидетельствует о наличии иммунодефицита, снижении количества CD4+Т-лимфоцитов в крови, наличии и выраженности репликации ВИЧ, оцениваемой по уровню ВН.

По клиническим и иммунологическим показаниям ВААРТ назначают:

1) пациентам со стадиями заболевания 2В, 4 и 5 (пациентам с вторичными заболеваниями) независимо от количества CD4+Т-лимфоцитов и ВН в крови;

2) пациентам с количеством CD4+Т-лимфоцитов менее 350 кл/мкл вне зависимости от стадии и фазы болезни;

3) следующим категориям пациентов с количеством CD4+Т-лимфоцитов 350–499 кл/мкл:

– пациентам с ВН более 100 000 копий/мл;

– пациентам старше 50 лет;

– больным хроническим вирусным гепатитом С;

4) следующим категориям пациентов, независимо от стадии заболевания, количества CD4+Т-лимфоцитов и уровня РНК ВИЧ:

- больным хроническим вирусным гепатитом В;
- больным туберкулезом;
- больным с хроническими заболеваниями почек;
- больным с нарушениями познавательной деятельности (когнитивными расстройствами);
- пациентам с выраженной анемией или тромбоцитопенией, если они являются проявлениями ВИЧ-инфекции;
- пациентам с заболеваниями, требующими длительного применения терапии, угнетающей иммунитет (лучевая терапия, кортикостероидные гормоны, цитостатики);
- беременным.

По эпидемиологическим показаниям ВААРТ рекомендуется назначать инфицированному партнеру, имеющему постоянного ВИЧ-негативного партнера, при условии предварительного консультирования обоих, и при подготовке ВИЧ-инфицированного пациента к применению вспомогательных репродуктивных технологий.

Кроме того, учитывая рекомендации о расширении показаний к ВААРТ как профилактическому мероприятию, она может быть назначена любому пациенту, желающему и готовому получать ее.

Период от выявления показаний к ВААРТ до ее начала не должен превышать двух недель. Поэтому консультационную работу по подготовке пациента к лечению необходимо начинать при первой же консультации лечащего врача и продолжать ее при каждой последующей. При выявлении показаний к проведению ВААРТ проводится дополнительное обследование больного, в результате которого необходимо решить следующие задачи:

- 1) получить исходные данные о состоянии пациента, необходимые для последующей оценки эффективности проводимой терапии;
- 2) выявить возможные противопоказания к тем или иным антиретровирусным препаратам или факторы риска их применения, а также исходные данные, которые позволят оценивать безопасность проводимой терапии;
- 3) подобрать оптимальную для данного конкретного пациента схему.

Прием препаратов можно начинать до того, как будут окончательно установлены стадия и фаза заболевания и получен результат исследования уровня РНК ВИЧ. Если исследование ВН до начала ВААРТ по каким-либо причинам невозможно, рекомендуется заморозить образец плазмы крови пациента и провести это исследование, когда такая возможность появится. Выявление возможных противопоказаний к отдельным препаратам также не должно становиться препятствием для своевременного назначения ВААРТ, так как в подавляющем большинстве случаев для этого достаточно таких общедоступных исследований, как анализ крови на гемоглобин и лейкоцитарную формулу и биохимический анализ крови.

Лечение проводится на добровольной основе и предполагает активное участие самого больного. Поэтому важнейшим компонентом успеха является психологическая подготовка пациента, неотъемлемая часть которого – консультирование по вопросам приверженности к лечению и рисков нарушения ее эффективности, его предполагаемой эффективности, противопоказаний и осложнений планируемой терапии. Вся информация должна быть представлена больному не только в устном, но и в письменном виде. Перед назначением лечения необходимо получить письменное информированное согласие пациента.

К настоящему времени синтезировано большое количество различных антиретровирусных препаратов, которые разделены на следующие группы:

1) нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (НИОТ), блокирующие процесс обратной транскрипции; это измененные молекулы нуклеозидов или нуклеотидов, встраивающиеся в синтезируемую цепочку ДНК и прекращающие ее дальнейшую сборку: абакавир, диданозин, зидовудин, ламивудин, ставудин, тенофовир, фосфазид, эмтрицитабин;

2) ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (ННИОТ), блокирующие необходимый для осуществления обратной транскрипции вирусный фермент – обратную транскриптазу ВИЧ: невирапин, рилпивирин, этравирин, эфавиренз;

3) ингибиторы протеазы (ИП), блокирующие процесс формирования полноценных белков ВИЧ и в конечном счете сборки новых вирусов: атазанавир, дарунавир, индинавир, лопинавир, нелфинавир, ритонавир, саквинавир, типранавир, фосампренавир;

4) препараты, воздействующие на рецепторы, используемые вирусом для проникновения ВИЧ в клетку хозяина: ингибитор фузии – энфувиртид и ингибитор хемокиновых рецепторов CCR5 – маравирик;

5) ингибиторы интегразы (ИИ), блокирующие процесс встраивания провирусной ДНК в ДНК человека с помощью фермента интегразы: долутогравир и ралтегравир.

В настоящее время пациенту одновременно назначают не менее трех антиретровирусных препаратов. Это и есть ВААРТ. При этом лечение проводится пожизненно, за исключением превентивной терапии (химиопрофилактики), проводимой после эпидемически значимого контакта с больным ВИЧ-инфекцией или инфицированным ВИЧ материалом, а в некоторых случаях и терапии, назначенной в периоде острой ВИЧ-инфекции или во время беременности. Ранее, когда выбор антиретровирусных препаратов был небольшим, терапия проводилась по схемам монотерапии или битерапии.

Поскольку монотерапия и битерапия кардинально уступают ВААРТ в эффективности, в настоящее время эти схемы не применяются. Исключение составляют назначаемые с целью упрощения схем монотерапия ИП/ритонавир или битерапия ИП/ритонавир +НИОТ или ИП/ритонавир + ИИ.

Различают предпочтительные, альтернативные и приемлемые схемы ВААРТ. В качестве предпочтительных и альтернативных используют схемы с доказанной вирусологической эффективностью, безопасностью и хорошей переносимостью. Предпочтительные схемы оптимальны по совокупности таких параметров, как эффективность, безопасность, переносимость, удобство приема, экономичность. Альтернативные схемы уступают предпочтительным по какому-либо параметру (чаще по удобству приема и экономичности). Однако для некоторых групп пациентов они имеют преимущество перед предпочтительными схемами по параметрам безопасности или эф-

фективности, и поэтому являются предпочтительными в этих случаях. Приемлемые схемы – это схемы, эффективность которых менее изучена или нежелательные явления выражены в большей степени по сравнению с предпочтительными или альтернативными схемами.

Кроме того, выделяют схемы ВААРТ первого, второго и третьего ряда и схемы резерва (схемы спасения). Под схемами первого ряда понимают схемы, назначаемые пациентам, которые ранее не получали терапии. Под схемами второго ряда подразумевают режимы ВААРТ, применяемые в случае неэффективности терапевтических схем первого ряда. Этим они отличаются от альтернативных схем, которые назначают особым категориям больных или при непереносимости предпочтительной схемы (СМ, НИЖЕ – о предпочтительных). Соответственно схемы третьего ряда назначают при неэффективности схем второго ряда. Схемы резерва (схемы спасения) – нестандартные схемы, которые применяются при неэффективности схем второго и последующих рядов. Обычно они включают в себя препараты разных групп, подбор которых осуществляется индивидуально, исходя из анализа результатов исследования резистентности возбудителя и ранее проводимой терапии.

При выборе схемы лечения для конкретного пациента сначала рассматривается возможность назначения предпочтительной схемы. Если имеются данные, свидетельствующие о том, что альтернативная схема будет для данного пациента более эффективной, безопасной или переносимой, назначают альтернативную схему. Альтернативные схемы назначают также пациентам, у которых развилась непереносимость приоритетной схемы. Приемлемые схемы могут применяться только при невозможности (например, из-за непереносимости) назначения предпочтительных и альтернативных схем.

Для оценки эффективности ВААРТ используют клинические и лабораторные критерии. Клинические критерии подразумевают оценку прогрессирования ВИЧ-инфекции и течения вторичных заболеваний и являются наиболее доступными показателями клинической эффективности лечения для практического врача и в долгосрочном плане – наиболее объективными. Однако при краткосрочном наблюдении они недостаточно достоверны из-за характерной для ВИЧ-

инфекции медленной динамики заболевания, невозможности быстрого восстановления угнетенного иммунитета. Кроме того, обострение течения имеющихся у больного вторичных заболеваний или появление новых после начала лечения может быть проявлением синдрома восстановления иммунной системы. Особенно это характерно для пациентов с количеством CD4+Т-лимфоцитов менее 50 кл/мкл. Поэтому признаки клинического прогрессирования ВИЧ-инфекции на фоне ВААРТ в течение первых 12 недель ее проведения обычно не рассматриваются как признак ее неадекватности.

Из лабораторных критериев оценки эффективности лечения наиболее информативным в настоящее время считается определение в крови уровня CD4+Т-лимфоцитов и ВН.

Факторы, способствующие неудаче ВААРТ, многообразны. К ним относятся высокий уровень ВН, низкий уровень CD4+Т-лимфоцитов, наличие тяжелых вторичных заболеваний при начале лечения, первичная резистентность вируса, неадекватная предшествующая терапия, нарушение режима приема лекарств (из-за недостаточной приверженности к лечению, развития побочных реакций на прием препаратов, несоблюдение пищевого режима), неправильное назначение терапии, сопутствующий прием лекарств, снижающих эффективность какого-либо из компонентов ВААРТ.

ВААРТ считается недостаточно эффективной и нуждается в замене в следующих случаях:

- 1) появление новых или рецидив ранее отмечавшихся вторичных заболеваний не ранее, чем через 12 недель после начала лечения;
- 2) отсутствие повышения количества CD4+Т-лимфоцитов более чем на 50 кл/мкл в течение одного года лечения;
- 3) снижение количества CD4+Т-лимфоцитов ниже уровня, отмеченного до начала ВААРТ;
- 4) снижение количества CD4+Т-лимфоцитов более чем на 50% ниже пикового уровня, достигнутого в ходе лечения;
- 5) отсутствие снижения уровня ВН ВИЧ ниже 400 копий/мл ( $2,6 \log_{10}$ ) через 12–16 недель или ниже 50 копий/мл ( $1,7 \log_{10}$ ) через 24 недели после начала лечения;



б) повышение ВН до уровня более 1000 копий/мл ( $3,0 \log_{10}$ ) в двух повторных исследованиях, если до этого был достигнут неопределяемый уровень.

Таковы основные принципы проведения антиретровирусной терапии. Лабораторные тесты позволяют контролировать эффективность ВААРТ и корректировать при необходимости терапевтические схемы, реализуя тем самым индивидуальный подход к лечению пациентов.

### **Контрольные вопросы**

1. Что является основным компонентом лечения ВИЧ-инфицированных?
2. Каковы цели ВААРТ?
3. Каковы принципы назначения ВААРТ?
4. Опишите показания к назначению ВААРТ?
5. Какие группы препаратов входят в схемы ВААРТ?
6. Какие схемы ВААРТ применяют в лечении ВИЧ-инфекции?
7. Каковы лабораторные критерии эффективности лечения ВИЧ-инфекции?
8. Когда ВААРТ считается неэффективной?

## Глава 4. Профилактика ВИЧ-инфекции

Несмотря на успехи в области лечения ВИЧ-инфекции и проведения перинатальной химиопрофилактики, эпидемия развивается высокими темпами. Поэтому профилактические мероприятия в отношении такого социально значимого заболевания, как ВИЧ-инфекция, должны охватывать различные контингенты населения. Повышение информированности и санитарно-гигиенической культуры людей является очень важным звеном в деле профилактики ВИЧ-инфекции.

Источником ВИЧ-инфекции являются люди, инфицированные ВИЧ на любой стадии заболевания, в том числе в инкубационном периоде, поэтому основные профилактические мероприятия преследуют цель предотвращения заражения. ВИЧ-инфекция может передаваться при реализации как естественного, так и искусственного механизмов передачи. К естественному механизму передачи относятся контактный, который реализуется преимущественно при половых контактах (как при гомо-, так и гетеросексуальных) и при контакте слизистой или раневой поверхности с кровью, и вертикальный (инфицирование ребенка от ВИЧ-инфицированной матери во время беременности, в родах и при грудном вскармливании.) К искусственному относится артериальный механизм при медицинских и немедицинских инвазивных процедурах. В первом случае инфицирование может осуществляться при переливании крови и ее компонентов, пересадке органов и тканей, использовании донорской спермы, донорского грудного молока от ВИЧ-инфицированного донора, а также через медицинский инструментарий для парентеральных вмешательств, изделия медицинского назначения, контаминированные ВИЧ и не подвергшиеся обработке в соответствии с требованиями нормативных документов. Во втором случае заражение происходит при внутривенном введении наркотиков (использование шприцев, игл, другого инъекционного оборудования и материалов), нанесении татуировок, при проведении косметических, маникюрных и педикюрных процедур нестерильным инструментарием.

Основными уязвимыми группами населения являются потребители инъекционных наркотиков (ПИН), коммерческие секс-работники (КСР), мужчины, имеющие секс с мужчинами (МСМ). Группу повышенного риска заражения представляют клиенты КСР, половые партнеры ПИН, заключенные, беспризорные дети, лица, имеющие большое число половых партнеров, мигрирующие слои населения (водители-дальнобойщики, сезонные рабочие, в том числе иностранные граждане, работающие вахтовым методом, и другие), люди, злоупотребляющие алкоголем и неинъекционными наркотиками, поскольку под воздействием психоактивных веществ они чаще практикуют более опасное сексуальное поведение.

Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией – это система постоянного динамического и многоаспектного слежения за динамикой и структурой заболеваемости (инфицированности) данной инфекционной болезнью, возникающей в человеческой популяции в связи с особенностью патогенного агента (биологический фактор), вызвавшего инфекционный процесс, и различными социально-демографическими и поведенческими характеристиками людей.

Целями государственного санитарно-эпидемиологического надзора за ВИЧ-инфекцией являются оценка эпидемиологической ситуации, тенденций развития эпидемического процесса; слежение за охватом населения профилактикой, диспансерным наблюдением, лечением и поддержкой при ВИЧ-инфекции, эффективностью проводимых мероприятий для принятия управленческих решений и разработкой адекватных санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий, направленных на снижение заболеваемости ВИЧ-инфекцией; предупреждение формирования групповых заболеваний ВИЧ-инфекцией, тяжелых форм и летальных исходов.

Каждый случай заболевания ВИЧ-инфекцией (положительный результат исследования в иммуноблоте) подлежит регистрации и учету по месту выявления в лечебно-профилактическом учреждении (ЛПУ) независимо от ведомственной принадлежности и форм собственности. Учет по месту жительства пациента ведется для организации диспансерного наблюдения и лечения. Информация о положи-

тельном результате исследования крови на ВИЧ в иммунном блоттинге из референс-лаборатории передается в скрининговую лабораторию и/или ЛПУ, направившее материал на исследование, а также в территориальные органы, осуществляющие государственный санитарно-эпидемиологический надзор, Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом. При выявлении ВИЧ-инфекции у иногородних жителей России информация передается в территориальный центр по профилактике и борьбе со СПИДом по месту постоянной регистрации пациента. При получении положительного результата исследования на ВИЧ у донора крови, органов и тканей информация из референс-лаборатории передается в течение 24 часов по телефону в учреждения службы крови (станции переливания крови, отделения переливания крови) и в территориальные органы, осуществляющие государственный санитарно-эпидемиологический надзор.

Внеочередное донесение о каждом случае заражения ВИЧ в ЛПУ или подозрении на него передается органам, осуществляющим государственный санитарно-эпидемиологический надзор по субъекту РФ, в Федеральный орган, осуществляющий санитарно-эпидемиологический надзор, и Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом. По завершении эпидемиологического расследования составленный акт направляется в Федеральный орган, осуществляющий санитарно-эпидемиологический надзор в РФ, и Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом.

При выявлении каждого нового случая ВИЧ-инфекции (в том числе при положительном результате лабораторного исследования секционного материала на ВИЧ-инфекцию) проводится эпидемиологическое расследование специалистами территориального центра СПИД и, при необходимости, специалистами органов, осуществляющих государственный эпидемиологический надзор. На основании результатов эпидемиологического расследования дается заключение о причинах заболевания, источниках инфекции, ведущих путях и факторах передачи ВИЧ-инфекции, обусловивших возникновение заболева-

ния. С учетом этого заключения разрабатывается и реализуется комплекс профилактических и противоэпидемических мероприятий, включающих обучение инфицированных ВИЧ и контактных лиц, назначение средств специфической и неспецифической профилактики.

При подозрении на внутрибольничное инфицирование эпидемиологическое расследование проводится специалистами органов, осуществляющих государственный эпидемиологический надзор, совместно со специалистами Центров СПИД и/или специалистами ФГУН, на базе которых функционируют федеральный и окружные центры по профилактике и борьбе со СПИД, ФГУ Республиканская клиническая инфекционная больница (г. Санкт-Петербург), с привлечением необходимых экспертов. По каждому случаю внутрибольничного инфицирования осуществляется комплекс профилактических и противоэпидемических мероприятий по локализации очага и недопущению дальнейшего распространения инфекции, составляется «Акт эпидемиологического расследования».

Эпидемиологическое расследование в отношении половых партнеров и партнеров по употреблению наркотиков проводится методом «оповещения партнеров» (в случае обнаружения ВИЧ-инфицированного лица проводится идентификация контактных лиц, с ними проводится индивидуальное консультирование по вопросам профилактики ВИЧ-инфекции). Инфицированному ВИЧ предоставляется возможность либо самостоятельно сообщить партнерам о риске заражения ВИЧ и пригласить на консультирование в территориальный центр СПИД, либо предоставить консультанту контактную информацию о партнерах (обычно имя и телефон партнера) для приглашения на консультирование. Консультант должен неукоснительно следовать принципу анонимности информации и гарантировать первому и всем последующим участникам оповещения полную конфиденциальность.

Мероприятия, проводимые в эпидемических очагах, могут быть условно разделены на следующие группы.

1. Мероприятия, проводимые в отношении источника ВИЧ-инфекции, снижающие вероятность передачи вируса. К ним можно от-

нести следующие: своевременное выявление и установление диагноза ВИЧ-инфекции; специфическую терапию антиретро-вирусными препаратами (в том числе профилактическую химиотерапию у беременных) для снижения ВН у ВИЧ-инфицированного и уменьшения риска передачи ВИЧ-инфекции; обследование и лечение ИППП; направление ПИН на лечение наркотической зависимости, что снижает активность источника в передаче вируса при использовании наркотиков; запрет на въезд и депортация ВИЧ-инфицированных иностранных граждан для сокращения числа источников инфекции на территории страны.

2. Мероприятия, проводимые в отношении механизмов, путей и факторов передачи. К ним относятся: проведение дезинфекции и стерилизация медицинского инструментария и оборудования в медицинских и немедицинских учреждениях, применение одноразового инструментария; использованием барьерных методов защиты персонала; обследование доноров крови и любых донорских материалов на наличие антител к ВИЧ при каждой сдаче донорского материала; карантинизация препаратов крови и выбраковка инфицированного донорского материала; проведение эпидемиологического расследования при ВИЧ-инфекции; консультирование/обучение населения (как восприимчивого контингента, так и источников инфекции) безопасному или менее опасному поведению, профилактическая работа с уязвимыми группами населения (ПИН, КСР, МСМ и др.). Особенно важным является предотвращение контакта ребенка с биологическими жидкостями ВИЧ-инфицированной матери в сочетании с назначением антиретровирусных препаратов во время родов при плановом проведении кесарева сечения у ВИЧ-инфицированных женщин и после родов путем замены грудного вскармливания ребенка ВИЧ-инфицированной матери на искусственное.

3. Мероприятия, проводимые в отношении восприимчивого контингента. К ним относятся следующие: установление максимально полного круга лиц, имевших контакты с ВИЧ-инфицированным для информирования о методах и способах защиты от заражения ВИЧ в ходе дотестового консультирования и обследования на ВИЧ-ин-

фекцию; обучение безопасному в плане заражения ВИЧ-инфекцией поведению; проведение превентивной химиопрофилактики новорожденным ВИЧ-инфицированных матерей, медработникам, пострадавшим при оказании помощи ВИЧ-инфицированным лицам и гражданам, в отношении которых имеются основания полагать наличие контакта, повлекшего риск инфицирования ВИЧ.

Основой профилактики внутрибольничного инфицирования ВИЧ-инфекцией является соблюдение противоэпидемического режима в ЛПУ. Профилактические мероприятия проводятся исходя из положения, что каждый пациент расценивается как потенциальный источник гемоконтактных инфекций (гепатит В, С, ВИЧ и др.). Для предотвращения внутрибольничной передачи ВИЧ-инфекции необходимо обеспечить соблюдение установленных требований к дезинфекции, предстерилизационной очистке, стерилизации изделий медицинского назначения, а также к сбору, обеззараживанию, временному хранению и транспортированию медицинских отходов, образующихся в ЛПУ. При подозрении на случай внутрибольничного заражения ВИЧ-инфекцией в ЛПУ проводится внеплановое санитарно-эпидемиологическое расследование для выявления источника, факторов передачи, установления круга контактных лиц среди персонала и пациентов, находившихся в равных условиях с учетом риска возможного инфицирования.

С целью профилактики профессионального заражения ВИЧ-инфекцией проводится комплекс мероприятий по недопущению аварийных ситуаций при выполнении различных видов работ. При возникновении аварийной ситуации на рабочем месте медицинский работник обязан незамедлительно принять меры по предотвращению заражения ВИЧ-инфекцией. В случае порезов и уколов немедленно снять перчатки, вымыть руки с мылом под проточной водой, обработать руки 70%-м спиртом, смазать ранку 5%-м спиртовым раствором йода. При попадании крови или других биологических жидкостей на кожные покровы это место обрабатывают 70%-м спиртом, обмывают водой с мылом и повторно обрабатывают 70%-м спиртом. При попадании крови и других биологических жидкостей пациента на слизи-

стые оболочки ротовую полость необходимо промыть большим количеством воды и прополоскать 70%-м раствором этилового спирта, слизистые оболочки носа и глаза обильно промывают водой. При попадании крови и других биологических жидкостей пациента на халат или одежду необходимо снять рабочую одежду и погрузить в дезинфицирующий раствор или в бикс для автоклавирования.

В возможно короткие сроки после контакта необходимо обследовать на ВИЧ и вирусные гепатиты В и С лицо, которое может являться потенциальным источником заражения, и контактировавшее с ним лицо. Обследование на ВИЧ потенциального источника ВИЧ-инфекции и контактировавшего лица проводят методом экспресс-тестирования на антитела к ВИЧ после аварийной ситуации с обязательным направлением образца из той же порции крови для стандартного тестирования на ВИЧ в ИФА. Образцы плазмы (или сыворотки) крови человека, являющегося потенциальным источником заражения, и контактного лица, передают для хранения в течение 12 месяцев в территориальный центр СПИД.

При проведении постконтактной профилактики заражения ВИЧ антиретровирусными препаратами их прием должен быть начат в течение первых двух часов после аварии, но не позднее 72 часов. Стандартная схема постконтактной профилактики заражения – лопинавир/ритонавир + зидовудин/ламивудин. При отсутствии данных препаратов для начала химиопрофилактики могут использоваться любые другие антиретровирусные препараты; если невозможно сразу назначить полноценную схему ВААРТ, начинается прием одного или двух имеющихся в наличии препаратов. Использование невирапина и абакавира возможно только при отсутствии других препаратов. Если единственным из имеющихся препаратов является невирапин, должна быть назначена только одна доза препарата – 0,2 г (повторный его прием недопустим), затем при поступлении других препаратов назначается полноценная химиопрофилактика. Если химиопрофилактика начата с использованием абакавира, следует как можно быстрее провести исследование на реакцию гиперчувствительности к нему или провести замену абакавира на другой НИОТ.



Профилактика посттрансфузионного инфицирования ВИЧ, инфицирования ВИЧ при пересадке органов и тканей и при искусственном оплодотворении включает мероприятия по обеспечению безопасности при заборе, заготовке, хранению донорской крови и ее компонентов, органов и тканей, а также при использовании донорских материалов. Доноры крови, компонентов крови, органов и тканей допускаются к взятию донорского материала после изучения документов и результатов медицинского обследования, подтверждающих возможность донорства и его безопасность для медицинского применения. Безопасность донорских материалов подтверждается отрицательными результатами лабораторного исследования образцов крови доноров, взятых во время каждого забора донорского материала, на наличие возбудителей гемотрансмиссивных инфекций с использованием иммунологических и молекулярно-биологических методов. При исследовании образца крови донора проводится одновременное определение наличия антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антигена р24. Первое иммунологическое исследование методом ИФА проводится в единичной постановке. При получении положительного результата анализа соответствующее исследование ИФА повторяется два раза с использованием реагентов, применяемых при первой постановке. В случае получения хотя бы одного положительного результата при повторном тестировании на маркеры ВИЧ донорский материал утилизируют, образец направляют на референс-исследование. Молекулярно-биологические исследования проводятся дополнительно к ИФА.

Донорскую кровь и ее компоненты передают в медицинские учреждения для трансфузий только после повторного (не менее чем через 6 месяцев) обследования донора на наличие маркеров вирусов ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и других гемотрансмиссивных инфекций для исключения возможности невыявления инфицирования в период серонегативного окна (карантин). Карантинизация свежее-замороженной плазмы осуществляется на срок не менее 180 суток с момента замораживания при температуре ниже минус 25 °С. По истечении срока карантинизации свежеезамороженной плазмы проводится повторное обследование состояния здоровья донора и лабораторное исследование крови донора с

целью исключения наличия в ней возбудителей гемотрансмиссивных инфекций. Компоненты крови с малым сроком годности (до 1 месяца) должны забирать от кадровых (повторных) доноров. Их безопасность должна дополнительно подтверждаться методом ПЦР. В качестве объекта исследования в этом случае используется плазма крови (сыворотка) от той же и следующей донации.

В качестве дополнительной меры, повышающей вирусную безопасность крови и ее компонентов, не заменяя их, допускается применение методов инактивации патогенных биологических агентов.

В случае получения информации о возможном заражении реципиента гемотрансмиссивными инфекциями проводится анализ предыдущих случаев донаций за период не менее 12 месяцев, предшествующих последней донации, повторно анализируется документация, а организация, осуществляющая переработку крови (плазмы), оценивает необходимость отзыва изготовленных продуктов крови, принимая во внимание вид заболевания, интервал времени между донацией и исследованием крови и характеристику продукта.

Переливание донорской крови и ее компонентов, пересадка органов и тканей и искусственное оплодотворение от доноров, не обследованных на наличие возбудителей гемотрансмиссивных инфекций, запрещено. В случае переливания донорской крови, ее компонентов, пересадки донорских органов и тканей от инфицированного ВИЧ донора немедленно (но не позднее 72 часов после переливания/пересадки) необходимо провести постконтактную химиопрофилактику заражения ВИЧ антиретровирусными препаратами.

Профилактика вертикальной передачи ВИЧ-инфекции имеет ряд особенностей. Заражение ребенка от ВИЧ-инфицированной матери возможно во время беременности, особенно на поздних сроках (после 30 недель), во время родов и при грудном вскармливании. Выявление ВИЧ-инфекции у беременной женщины является показанием к проведению профилактики передачи ВИЧ от матери ребенку. Вероятность передачи ВИЧ от матери ребенку без проведения профилактических мероприятий составляет 20–40%. Применение превентивных медицинских вмешательств позволяет снизить

риск инфицирования ребенка от матери до 1–2% даже на поздних стадиях ВИЧ-инфекции.

Максимальная эффективность профилактических мероприятий, направленных на предотвращение передачи ВИЧ-инфекции от матери ребенку, достигается снижением ВН в крови матери до неопределяемого уровня (во время беременности и родов) и предотвращением контакта ребенка с биологическими жидкостями матери (во время и после родов – кровь, вагинальное отделяемое, грудное молоко). Для снижения количества вируса в крови беременной необходимо провести консультирование и назначить антиретровирусные препараты. В целях предотвращения контакта крови и других тканей матери и ребенка необходимы следующие мероприятия:

1) при ВН у матери более 1000 копий/мл или если она неизвестна, родоразрешение проводят путем планового кесарева сечения по достижении 38-й недели беременности, до начала родовой деятельности и излития околоплодных вод;

2) инфицированной ВИЧ женщине следует отказаться от грудного вскармливания новорожденного.

Медикаментозная профилактика вертикальной передачи ВИЧ-инфекции (химиопрофилактика) заключается в назначении антиретровирусных препаратов (АРВП) матери и ребенку. АРВП назначаются женщине с 26–28-й недели беременности (если у женщины нет показаний для назначения постоянной антиретровирусной терапии), во время родов и ребенку после рождения.

Показания к назначению АРВП у женщины и ребенка:

1) наличие ВИЧ-инфекции у беременной;

2) положительный результат тестирования на антитела к ВИЧ у беременной, в том числе с использованием экспресс-тестов;

3) эпидемиологические показания у беременной (при отрицательном результате обследования на ВИЧ и наличии риска заражения ВИЧ в последние 12 недель).

Для профилактики передачи ВИЧ от матери ребенку во время беременности и родов назначается схема из трех антиретровирусных препаратов: 2 НИОТ + 1 ННИОТ или 1 бустированный ингибитор

протеазы. В процессе химиопрофилактики антиретровирусными препаратами осуществляется комплексный контроль эффективности и безопасности терапии. Химиопрофилактика назначается также всем детям инфицированных ВИЧ матерей с первых часов жизни, но не позднее 72 часов после рождения или с момента последнего вскармливания материнским молоком (при условии его последующей отмены). Выбор схемы антиретровирусной профилактики у ребенка определяется полнотой проведения и качеством химиопрофилактики у матери во время беременности, схема включает 1 или 3 препарата.

Гигиеническое воспитание населения является одним из основных методов профилактики ВИЧ-инфекции. Ни одно мероприятие по отдельности не может предотвратить или остановить эпидемию ВИЧ-инфекции в регионе. Должна проводиться комплексная, адресная программа профилактики, лечения и ухода для различных групп населения. Гигиеническое воспитание населения включает в себя предоставление подробной информации о ВИЧ-инфекции, мерах ее неспецифической профилактики, основных симптомах заболевания, важности своевременного выявления заболевших лиц, необходимости взятия их на диспансерный учет и других мероприятий с использованием средств массовой информации, листовок, плакатов, бюллетеней, а также проведение индивидуальной работы, направленной на формирование поведения, менее опасного в отношении заражения ВИЧ. Обучение населения должно включать освещение всех вариантов безопасного и менее опасного поведения во избежание заражения ВИЧ-инфекцией: безопасность сексуального поведения, безопасность парентеральных вмешательств, профессиональной безопасности.

Профилактическую работу среди населения проводят органы и учреждения Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации, органы и учреждения здравоохранения, в том числе центры по профилактике и борьбы со СПИДом, наркологические диспансеры и наркологические реабилитационные центры, кожно-венерологические диспансеры, женские консультации и перинатальные центры, центры медицинской профилактики, центры здоровья, работодатели, неправительственные и другие организации под методическим руко-

водством территориального центра СПИД. ЛПУ должны иметь в доступном для больных и посетителей месте наглядную агитацию по предупреждению заражения ВИЧ, предупреждению потребления наркотиков, информацию о деятельности медицинских учреждений и общественных организаций, оказывающих помощь инфицированным ВИЧ людям, употребляющим психоактивные вещества, лицам, оказывающим сексуальные услуги за плату, жертвам насилия, а также номера телефонов доверия.

Санитарные правила предусматривают внедрение учебных программ, включающих вопросы профилактики ВИЧ-инфекции, в образовательных учреждениях (муниципальных, высших, средних специальных, учреждениях начальной профессиональной подготовки, профессиональных училищах).

### **Контрольные вопросы**

1. Каковы механизмы и пути передачи ВИЧ-инфекции?
2. Что включает в себя эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией, каковы его цели и задачи?
3. Какие мероприятия следует проводить в эпидемиологическом очаге ВИЧ-инфекции?
4. Какие контингенты относятся к уязвимым группам населения?
5. В чем заключается постконтактная профилактика ВИЧ-инфекции?
6. Назовите препараты, рекомендуемые для постконтактной профилактики ВИЧ-инфекции.
7. Какие мероприятия проводятся для посттрансфузионной профилактики заражения ВИЧ-инфекции?
8. В чем заключается трехэтапная профилактика вертикальной передачи ВИЧ-инфекции?
9. Перечислить оказания для назначения АРВП у женщины и ребенка?
10. Какова роль гигиенического воспитания населения в профилактике передачи ВИЧ-инфекции?

## Тестовые задания

### 1. Основные характеристики ВИЧ:

- А. Ретровирус
- Б. Относится к лентивирусам
- В. РНК-содержащий
- Г. Содержит ревертазу (обратную транскриптазу)
- Д. Все перечисленное

### 2. Отличительный признак всех ретровирусов, включая ВИЧ:

- А. Наличие поверхностной мембраны
- Б. Наличие РНК
- В. Интеграция в геном клетки хозяина
- Г. Наличие сердцевинной части
- Д. Лимфотропность

### 3. Вирусные гены в составе ДНК клетки хозяина при ВИЧ-инфекции называются:

- А. Аномальная хромосома
- Б. Чужеродный ген
- В. Провирус
- Г. РНК ВИЧ
- Д. Нуклеокапсид

### 4. Основными этапами репликации ВИЧ является все перечисленные, кроме:

- А. Взаимодействие оболочечных белков вируса с рецепторными белками клетки-мишени
- Б. Синтез дополнительной молекулы вирусной РНК
- В. Активация белков ВИЧ протеинкиназами клетки-мишени
- Г. Синтез ДНК с помощью обратной транскриптазы
- Д. Интеграция вновь образованной вирус-специфической ДНК в геном пораженной клетки

### 5. Белок-рецептор CD4 содержат все перечисленные клетки, кроме:

- А. Т-лимфоциты – хелперы
- Б. Макрофаги
- В. Моноциты

- Г. Эритроциты
- Д. Т-лимфоциты – супрессоры

**6. Причиной формирования иммунодефицита при ВИЧ-инфекции является все вышеперечисленное, кроме следующих:**

- А. Цитопатологическое действие вируса
- Б. Атрофия тимуса
- В. Формирование синцитиев
- Г. Образование аутоантител к иммунокомпетентным клеткам
- Д. Нарушение функции макрофагов

**7. Причины активации провируса ВИЧ:**

- А. Реинфекция ВИЧ
- Б. Беременность
- В. Суперинфекция другими вирусами
- Г. Отмена анти-ВИЧ-терапии
- Д. Все перечисленные

**8. Ведущая причина иммунодефицита и поражения различных органов и тканей при ВИЧ-инфекции:**

- А. Формирование аутоантител к тетрапептидам мембран клеток макроорганизма
- Б. Цитопатическое действие вируса
- В. Нарушение функции макрофагов
- Г. Снижение образования количества Т-лимфоцитов в костном мозге
- Д. Все перечисленное

**9. Клинические признаки прогрессирования ВИЧ-инфекции:**

- А. Оральный кандидоз, «волосатая лейкоплакия»
- Б. Герпетическая инфекция
- В. Лихорадка, недомогание
- Г. Диарея, потеря веса
- Д. Все перечисленные

**10. Основные методы диагностики ВИЧ-инфекции:**

- А. Выявление специфических антител
- Б. Выявление вирусных антигенов
- В. Определение провирусной ДНК, геномной РНК
- Г. Выделение вируса
- Д. Все перечисленное

**11. Какая структурная единица ВИЧ обеспечивает синтез ДНК на матрице РНК вируса:**

- А. Внешний белок мембраны
- Б. Белки сердцевины вириона
- В. Обратная транскриптаза
- Г. Трансмембранный белок
- Д. Все верно

**12. Основные ферменты ВИЧ – все, кроме:**

- А. Интеграза
- Б. Обратная транскриптаза
- В. Протеаза
- Г. Редуктаза

**13. Для проникновения ВИЧ в клетку необходимы:**

- А. CD8+ рецептор
- Б. Коррецепторы CCR5 и CXCR4
- В. CD20 рецептор
- Г. CD38 рецептор
- Д. CD3 рецептор

**14. Клетки, устойчивые к цитопатическому действию ВИЧ:**

- А. Лимфоциты
- Б. Дендритные клетки
- В. NK-клетки
- Г. Купферовские клетки печени
- Д. Макрофаги

**15. Для гриппоподобного синдрома при острой ВИЧ-инфекции характерны все перечисленные симптомы, кроме:**

- А. Лихорадка, озноб
- Б. Геморрагический синдром
- В. Интоксикация: головная боль, миалгии, артралгии, анорексия, недомогание
- Г. Умеренная полиаденопатия, увеличение селезенки
- Д. Фарингит, тонзиллит, кореподобная сыпь

**16. Основные клинические синдромы острой ВИЧ-инфекции:**

- А. Мононуклеозоподобный, гриппоподобный
- Б. Полиаденопатия, гастроэнтерит



В. Поражение нижних отделов респираторного тракта (интерстициальная пневмония)

Г. Серозный менингит, энцефалопатия, миелопатия, нефропатия, тромбоцитопения

Д. Все вышеперечисленное

**17. Основные характеристики многоядерных синцитиев:**

А. Активация иммунного ответа макроорганизма

Б. Лизис клеток, инфицированных ВИЧ

В. Отсутствие способности к делению и непродолжительное время жизни

Г. Активное восприятие информации антиген-презентирующих макрофагов

Д. Усиление процессов кооперации макрофаг – лимфоцит

Е. Всё перечисленное

**18. Механизмы гибели Т-лимфоцитов при ВИЧ-инфекции:**

А. Апоптоз

Б. Аутоиммунный механизм

В. Непосредственное действие вируса

Г. Сокращение репертуара Т-клеточного рецептора

Д. Все перечисленное

**19. Обязательному обследованию на ВИЧ-инфекцию подлежат:**

А. Доноры тканей и органов

Б. Медицинский персонал ЛПУ

В. Военнослужащие по призыву и контракту

Г. Иностранцы при получении вида на жительство

Д. Все перечисленные

**20. Диагностические лабораторные тесты при ВИЧ-инфекции:**

А. Скрининговое выявление антител методом ИФА

Б. Подтверждающее выявление антител методом иммунного блоттинга

В. Определение провирусной ДНК ВИЧ

Г. Все перечисленное

**21. В чем заключается перинатальная профилактика ВИЧ-инфекции?**

А. Химиопрофилактика в период беременности и в родах

Б. Химиофилактика в период беременности, в родах и профилактика новорожденного

В. Химиофилактика в период беременности, в родах, оперативное родоразрешение, профилактика новорожденного, искусственное вскармливание

Г. Химиофилактика в родах и новорожденному

**22. В чем заключается профилактика посттрансфузионной передачи ВИЧ-инфекции?**

А. Обследование донора на ВИЧ при каждой кроводаче

Б. Обследование реципиента на ВИЧ

В. Двукратное обследование донора с интервалом в 6 месяцев

Г. Переливание крови только мужчинам

**23. Выберите метод индивидуальной профилактики ВИЧ-инфекции:**

А. Барьерные методы предохранения (презерватив)

Б. Использование противозачаточных средств

В. Моногамные отношения

Г. Использование спирали

**24. Какой концентрации этиловый спирт используют для обработки рук медицинского персонала, загрязнённых кровью больного ВИЧ-инфекцией?**

А. 60 %

Б. 70 %

В. 80 %

Г. 90 %

**25. Является ли информирование населения о мерах и способах защиты от ВИЧ методом профилактики ВИЧ-инфекции?**

А. Да

Б. Нет

В. Нет, так как проводится всему населению, а не тем, кто имеет рискованное поведение

Г. Да, но не для групп высокого риска заражения

**26. Назовите группы риска относительно инфицирования ВИЧ:**

А. Гомо- и бисексуалы, проститутки

Б. Наркоманы, которые вводят себе наркотики внутривенно

- В. Реципиенты крови, ее препаратов и органов
- Г. Больные венерическими болезнями и вирусные гепатиты В, С, D
- Д. Все вышеуказанные

**27. Инфекционность ВИЧ при комнатной температуре сохраняется**

- А. 1 сутки
- Б. 4-6 дней
- В. 2-3 недели
- Г. 1 месяц
- Д. 2-3 месяца

**28. В какой биологической жидкости организма можно определить ВИЧ**

- А. Кровь
- Б. Ликвор, молоко, сперма
- В. Слюна, моча, стул
- Г. Пот, слезная жидкость
- Д. Во всех жидкостях организма

**29. Возможно ли проникновение ВИЧ через плацентарный барьер?**

- А. Нет
- Б. Да
- В. Иногда
- Г. Только в 3 триместре беременности
- Д. Только в первом триместре беременности

**30. Возможна ли репродукция ВИЧ в Т-лимфоцитах?**

- А. Да, в Т-супрессорах
- Б. Нет
- В. Да, только в Т-киллерах
- Г. Да, в Т-хелперах

**31. При лабораторном исследовании больных СПИДом обнаруживается:**

- А. Анемия
- Б. Тромбоцитопения
- В. Лейкопения
- Г. Лимфопения
- Д. Все перечисленное

**32. Наиболее характерные признаки СПИДа:**

- А. Лимфоаденопатия более 3 месяцев, лихорадка на протяжении 3 месяцев, торпидная к лечению антибиотиками
- Б. Диарея (не менее 2 месяцев)
- В. Рецидивирующий кандидоз рта
- Г. Снижение массы тела более 10%, потливость по ночам
- Д. Все перечисленное

**33. Генерализованная лимфоаденопатия редко встречается при следующих заболеваниях:**

- А. ВИЧ-инфекция
- Б. Инфекционный мононуклеоз
- В. Малярия
- Г. Сифилис

**34. Требования к хранению биологического материала, взятого для исследования на ВИЧ**

- А. Хранить в минимальных количествах, в специально предназначенных для этой цели емкостях, с надписью: «Осторожно – СПИД»
- Б. Хранится в холодильнике, образец должен быть доставлен как можно быстрее и чем больше объем образца, тем лучше
- В. Биологический материал не хранится, сразу же после исследования выбрасывается

**35. При обнаружении положительно реагирующей сыворотки**

- А. Исследуется повторно та же порция сыворотки
- Б. Исследуется повторно та же порция сыворотки и новая порция сыворотки исследуется дополнительно методом иммунного блотинга или иммунофлюоресценции
- В. Исследуется повторно новая порция сыворотки того же больного

**36. Если при повторном исследовании новой порции сыворотки получен отрицательный результат –**

- А. Сыворотка признается не содержащей антител к вирусу ВИЧ
- Б. Сыворотка признается содержащей антитела к вирусу ВИЧ
- В. Сыворотка признается не содержащей вирус ВИЧ
- Г. Иное

**37. Важными клиническими признаками кандидоза слизистой оболочки являются все, кроме:**

- А. Отсутствие зловонного запаха
- Б. Эритематозные очаги ярко-красного цвета
- В. Небольшая отечность и болезненные трещины на очагах
- Г. Присутствие зловонного запаха

**38. С инфицированием каким возбудителем чаще всего связан понос у больных СПИДом?**

- А. Цитомегаловирус
- Б. Кампилобактер
- В. Сальмонелла
- Г. Криптоспоридии
- Д. Ротавирус

**39. Окончание инкубационного периода при ВИЧ-инфекции ассоциируется с:**

- А. Повышением температуры тела
- Б. Увеличением лимфатических узлов
- В. Появлением кандидоза слизистых оболочек и кожных покровов
- Г. Появлением антител к ВИЧ
- Д. Резким похудением

**40. Какие иммунологические тесты не типичны для СПИДа?**

- А. Пониженное количество Т-хелперов
- Б. Угнетенный бластогенез
- В. Повышенный уровень гамма-глобулинов
- Г. Пониженный уровень гамма-глобулинов

**41. Окончательный диагноз ВИЧ-инфекции можно установить:**

- А. По клиническим признакам
- Б. При выявлении антител к ВИЧ в ИФА
- В. При выявлении антител к ВИЧ в ИФА и в иммуноблоте
- Г. При выявлении стойкой лимфаденопатии
- Д. При выявлении генерализованной саркомы Капоши

**42. В чем суть разрушительного действия ВИЧ на организм?**

- А. Разрушает свертывающую систему крови
- Б. Вызывает развитие дисбактериоза

- В. Препятствует оплодотворению
- Г. Способствует помутнению хрусталика глаза
- Д. Разрушает иммунную систему человека

**43. Через какое время с момента предполагаемого заражения лучше сдавать тест на антитела к ВИЧ?**

- А. На следующий день
- Б. Каждую неделю в течение года
- В. Каждую неделю в течение месяца
- Г. Через 3–6 месяцев
- Д. Через 3 года

**44. Период «окна» – это состояние, когда...**

- А. Организм еще не успел выработать антитела к вирусу и диагностировать заболевание нельзя
- Б. У человека еще не появились симптомы заболевания
- В. Человек не может передать инфекцию другим

**45. С какого момента после инфицирования ВИЧ человек может заразить других?**

- А. После окончания периода «окна»
- Б. С момента развития СПИДа
- В. Сразу, с момента заражения
- Г. На последней стадии СПИДа

### Ответы

1. Д	10. Д	19. Д	28. Д	37. Г
2. Д	11. В	20. Г	29. Б	38. Г
3. В	12. Г	21. В	30. Г	39. Г
4. Б	13. Б	22. А	31. Д	40. Г
5. Г	14. Д	23. А	32. Д	41. В
6. Б	15. Б	24. Б	33. В	42. Д
7. Д	16. Д	25. А	34. А	43. Г
8. В	17. В	26. Д	35. Б	44. А
9. Д	18. Д	27. Б	36. А	45. В

## Ситуационные задачи

**1.** В инфекционное отделение госпитализирован мужчина 37 лет, с жалобами на диарею в течение месяца, слабость, потерю аппетита. При осмотре выявлен кандидоз ротовой полости. Из анамнеза известно, что в течение последних десяти лет больной является потребителем инъекционных наркотиков. В ходе лабораторного обследования выявлены антитела к ВИЧ и вирусному гепатиту С. Результат иммунного блотинга положительный. Какая стадия ВИЧ-инфекции имеет место у пациента?

1. Субклиническая стадия
2. Стадия первичных проявлений
3. Стадия вторичных заболеваний 4А
4. Стадия вторичных заболеваний 4Б

**2.** В хирургическое отделение стационара поступил ВИЧ-инфицированный пациент с острым аппендицитом. Какие биологические жидкости и материалы ВИЧ-инфицированных пациентов содержат достаточную для заражения дозу возбудителя:

1. Пот, слюна, слёзы
2. Кровь, лимфа, вагинальный секрет, сперма
3. Моча, ликвор
4. Гнойное отделяемое

**3.** Из приемного покоя больницы в СПИД-диагностическую лабораторию доставлена кровь для проведения скринингового ИФА-исследования на ВИЧ. Как должны быть оформлены направления для исследования биоматериала на ВИЧ:

1. N 264/у-88 в одном экземпляре
2. N 264/у-88 в двух экземплярах
3. N 058/у в одном экземпляре
4. N 058/у в двух экземплярах

**4.** Кровь для проведения скринингового ИФА-исследования на ВИЧ в СПИД-диагностическую лабораторию доставлена без сопро-

водительных документов. Как должны доставляться направления для исследования биоматериала на ВИЧ:

1. Вкладывается в контейнер с биоматериалом
2. Помещается в полиэтиленовый пакет и вкладывается в контейнер
3. Помещается в полиэтиленовый пакет и доставляется вне контейнера

**5.** Биоматериал в СПИД-диагностическую лабораторию для проведения исследований на ВИЧ доставлен в немаркированном биксе медицинской сестрой. Как осуществляется доставка материала в лабораторию для исследования на ВИЧ:

1. В специальном контейнере с маркировкой "Осторожно AIDS»
2. В специальном контейнере-биксе без маркировки
3. Медицинским работником в любом контейнере
4. Больным или родственником пациентов

**6.** Кровь пациентов городской больницы была направлена в СПИД-диагностическую лабораторию для обследования на ВИЧ-инфекцию методом ПЦР. Основным скрининговым методом лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции в РФ являются:

1. Реакция иммунопреципитации
2. Метод иммуноферментного анализа
3. Реакция энзиммеченных антител
4. Метод иммунного блотинга

**7.** На приеме у дерматовенеролога пациентка предъявляет жалобы на общее недомогание, появление мелких пузырьков на внутренней поверхности бедер и наружных половых органов, сопровождающихся зудом и жжением. При осмотре выявлено увеличение паховых лимфатических узлов. Показанием для обследования на ВИЧ является выявление у больного таких заболеваний, как:

1. Гонорея
2. Вирусный гепатит А
3. Генитальный герпес
4. Крупозная пневмония



**8.** ВИЧ имеет суперкапсид, образованный двойным липидным слоем, а нуклеиновая кислота представлена РНК. К какому семейству вирусов относится вирус иммунодефицита человека?

1. Онковирусы
2. Лентивирусы
3. Ретровирусы
4. Паповавирусы

**9.** ВИЧ малоустойчив в окружающей среде. К какому из факторов воздействия он относительно устойчив?

1. 6% раствор перекиси водорода
2. Ультрафиолетовое облучение
3. 3% раствор хлорамина
4. Ионизирующая радиация

**10.** Кто является источником ВИЧ-инфекции?

1. Обезьяны
2. Больные СПИДом
3. ПИН
4. MSM

### Ответы

1. 3
2. 2
3. 2
4. 2
5. 1
6. 2
7. 3
8. 3
9. 3
10. 2

## Нормативные документы

Национальные рекомендации по диспансерному наблюдению и лечению больных ВИЧ-инфекцией (клинические протоколы, версия 2015 года, одобренная ННО инфекционистов).

Национальные клинические рекомендации. Диагностика ВИЧ-инфекции и применение антиретровирусных препаратов у детей. Июль 2014 г.

Приказ от 9 ноября 2012 г. №758н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при болезни, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)» МЗ РФ.

Приказ от 24 декабря 2012 г. №1511н «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при болезни, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекции)» МЗ РФ.

Приказ от 24 декабря 2012 г. №1512н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи детям при болезни, вызванной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ)» МЗ РФ.

Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.5.2826-10 «Профилактика ВИЧ-инфекции».

Эпидемиологический надзор за ВИЧ-инфекцией: методические указания. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2016.

## Список литературы

Бобкова М.Р. Лекарственная устойчивость ВИЧ [Электронный ресурс] : учеб. пособие. М. : Человек, 2014. Доступна эл. версия. ЭБС IPRbooks. Режим доступа: <https://lib.nspu.ru/views/library/66293/web.php>.

Вирус иммунодефицита человека – медицина / под ред. Н.А. Белякова, А.Г. Рахмановой. СПб. : Балтийский медицинский образовательный центр, 2013. 752 с.

ВИЧ-инфекция: Информационный бюллетень № 40 / В.В. Покровский [и др.] ; Федеральный научно-методический центр по профилактике и борьбе со СПИДом. М., 2015. 57 с.

Выявление и характеристика цитолитических CD8+ и CD4+Т-клеток / М.В. Пашенков [и др.] // Иммунология. 2010. № 1. С.4–12.

Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб. : Фолиант, 2014. 552 с.

Кольцова О.В., Сафонова П.В. Психосоциальное консультирование при тестировании на ВИЧ-инфекцию : руководство для врачей и психологов / под ред. Н.А. Белякова, А.Г. Рахмановой. СПб. : Балтийский медицинский образовательный центр, 2012. 656 с.

Маркин В.А. Оценка минимальных инфицирующих доз ВИЧ при распространении ВИЧ-инфекции // Вопросы вирусологии. 2012. № 1. С.4–8.

Матиевская Н.В. Ко-инфекция ВИЧ/ВГС: этиология, эпидемиология, патогенез, клиника, диагностика, лечение : монография. Гродно : ГрГМУ. 2013. 352 с.

Молекулярная эпидемиология ВИЧ-1 в Московской области / А.В. Гилязова [и др.] // Вопросы вирусологии. 2010. № 5. С. 25–29.

Показатели CD4+ и CD8+Т-лимфоцитов пациентов, инфицированных вариантами вируса иммунодефицита человека 1-го типа подтипа А, несущими мутации V77I в протеазе и A62V в обратной транскриптазе / Л.М. Селимова [и др.] // Вопросы вирусологии. 2015. № 2. С. 22–26.

Распространенность мутаций, ответственных за резистентность к антиретровирусным препаратам, среди вариантов ВИЧ-1, циркулирующих в Новосибирской области / Н.М. Гашникова, [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2012. № 6. С. 56–60.

Роль плазмоцитоидных дендритных клеток как новых иммунцитов в патогенезе ХГС, ХГВ и ВИЧ-инфекции / О.Н. Хохлова [и др.] // Инфекционные болезни. 2016. Т. 14, № 4. С. 31–36.

Самарина А.В., Беляков Н.А. Реализация подходов по снижению перинатальной передачи ВИЧ // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. 2014. Т.6, № 2. С. 7–24.

Станько Э.П. Медико-социальная характеристика ВИЧ-позитивных пациентов с опийной зависимостью // Актуальная инфектология. 2014. Т. 1, № 2. С. 32–39.

Хайтов Р.М. Иммунология: структура и функции иммунной системы : учеб. пособие. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. 280 с.

Хоффман К., Рокштро К.Ю. Лечение ВИЧ-инфекции. М. : Р. Валент, 2015. 736 с.

Шмагель К.В., Королевская Л.Б., Черешнев В.А. Роль иммунных комплексов в активации иммунокомпетентных клеток при ВИЧ-инфекции (гипотеза) // Иммунология. 2014. № 2. С. 117–120.

A clonogenic progenitor with prominent plasmacytoid dendritic cell developmental potential / N. Onai [et al.] // Immunity. 2013. Vol. 38(5). P. 943-947.

Borrow P., Bhadwaj N. Innate immune response in primary HIV-infection // Curr. Opin. HIV AIDS. 2013. Vol. 3. P. 36–44.

Castel ADI nterruptions of antiretroviral therapy in children and adolescents with HIV infection in clinical practice: a retrospective cohort study in the USA / N.Rakhmanina [et al.] // J. Int. AIDS Soc. 2016. Oct. 27; 19(1):20936.

CDC. Revised Surveillance Case Definition for HIV Infection – United States, 2014 // Washington DC: MMWR Reccom. Rep. 2014. Vol. 63 (RR-03). P. 1–10.

Early and prolonged antiretroviral therapy is associated with an HIV-1-specific T-cell profile comparable to that of long-term non-progressors / Cellerai C. [et al.] // PLOS One. 2015. Vol. 6, N 4.

HIV Prophylaxis in High Risk Newborns: An Examination of Socio-demographic Factors in an Inner City Context / Z. Alidina [et al.] // Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol. 2016:2782786.

HIV-1-specific interleukin-21+CD4++ T cell responses contribute to durable viral control through the modulation of HIV-specific CD8++ T cell function / M.F. Chevalier [et al.] // J. Virol. 2014. Vol. 85. P. 733-741.

Human Papillomavirus Prevalence and Genotype Distribution among HIV-infected Women in Korea / E.K. Park [et al.] // Korean Med. Sci. 2014. Vol. 1, N 29. P. 32–37.

Identifying risks for mental health problems in HIV positive adolescents accessing HIV treatment in Johannesburg / N. Woollett [et al.] // J. Child Adolesc Ment Health. 2017. Mar. 13. P. 1–17.

Impact of Hiv-Associated Conditions on Mortality in People Commencing Anti-Retroviral Therapy in Resource Limited Settings / C.S. Marshall [et al.] // PLOS One. 2013. Vol. 8(7). e68445.

Kobayashi T., Nishijima T. High Morbidity of Disseminated Non-Tuberculous Mycobacterial Infection in HIV-Infected Patients in the Antiretroviral Therapy Era // PLOS one. 2016. Vol. 11(3). e0151682.

Kupin W.L. Viral-Associated GN: Hepatitis C and HIV // Clin. J. Am. Soc. Nephrol. 2016. Oct. 24.

Metabolic syndrome in HIV-infected middle-aged women on antiretroviral therapy: prevalence and associated factors / L.D. Ak [et al.] // Braz. J. Infect. Dis. 2017. Mar. 8. P.1413-8670(17)30181-2.

Palanee A., Pattarawat T. Study on the expression of co-stimulatory marker CD134 on CD4++ T cells in HIV1–infected individuals // Journal of Immunoassay and Immunochemistry. 2013. Vol. 33. P. 195–202.

Perinatal outcomes associated with maternal HIV infection: a systematic review and meta-analysis / C.O. Wedi [et al.] // Lancet HIV. 2016. Jan. 3(1). P. 33–48.

Plasma cytokine levels during acute HIV-1 infection predict HIV disease progression / L. Roberts [et al.] // AIDS. 2014. Vol. 24. P. 819–831.

Pre-ART Levels of Inflammation and Coagulation Markers Are Strong Predictors of Death in a South African Cohort with Advanced HIV Disease / L. Ledwaba [et al.] // PLOS One. 2012. Vol. 7. N 3.

Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4<sup>++</sup> T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract / S. Mehandru [et al.] // J. Exp. Med. 2014. Vol. 6. P. 761–770.

Rodríguez J.Y. Lingual tuberculosis in an HIV/AIDS Patient / J.Y. Rodríguez, G.J. Rodríguez, C.A.Álvarez-Moreno // Int. J. Infect. Dis. 2017. Mar. 7. P. 1201–9712.

Sweski M., Colonna M. The multifaceted biology of plasmacytoid dendritic cells // Nat. Rev. Immunol. 2015. Vol. 15(8). P. 471–485.

Tenofovir-associated Fanconi`s syndrome and rickets in a HIV infected girl / M. Zúñiga [et al.] // Rev. Chil. Pediatr. 2017. Feb; 88(1). P. 148–152.

Teriflunomide and monomethylfumarate target HIV-induced neuroinflammation and neurotoxicity / Ambrosius B. [et al.] // J. Neuroinflammation. 2017. Vol. 14, N 1. P. 51–55.

The immune response during acute HIV-1 infection: clues for vaccine development / Michael A.J. [et al.] // Nat. Rev. Immunol. 2015. Vol. 10. P. 14–23.

Thisyakorn U. Elimination of mother-to-child transmission of HIV: lessons learned from success in Thailand // Paediatr. Int. Child Health. 2017. Feb.8. P. 1–10.

Учебное издание

**ВИЧ-инфекция: иммуногенез, диагностика,  
лечение и профилактика**

Учебное пособие

*Составители:*

**Скляр** Лидия Фёдоровна,  
**Бениова** Светлана Николаевна,  
**Маркелова** Елена Владимировна и др.

Редактор *Л.А. Кириллова*

Компьютерная верстка и дизайн обложки *Е.П. Давыгора*

Подписано в печать 12.10.2017.  
Формат 60×84 / 16. Усл. печ. л. 5,58.  
Тираж 300 экз. (1-й завод 1–100). Заказ **xxx**.

Дальневосточный федеральный университет  
690091, г. Владивосток, ул. Суханова, 8

Отпечатано в Дальневосточном федеральном университете  
690091, г. Владивосток, ул. Суханова, 8  
(типография Издательства ДВФУ,  
690091, г. Владивосток, ул. Пушкинская, 10)