

УДК 61  
ББК 28.707.4  
К46

**К46** Кишкун А. А.  
Иммунологические и серологические исследования в клинической практике. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. — 536 с.

ISBN 5-89481-351-4

Проводится клиническая оценка результатов иммунологических и серологических исследований, все аспекты которых рассматриваются с позиций доказательной медицины. Для большинства лабораторных тестов приведены их операционные характеристики (аналитические и диагностические), а также критерии диагностики заболеваний. Богатство и глубина приведенной информации, подходы к ее правильному и своевременному использованию для диагностики, выбора адекватных методов терапии, определения прогноза и достижения целей лечения несомненно вызовут огромный интерес у практического врача любой специальности.

Адресована врачам всех клинических специальностей.

УДК 61  
ББК 28.707.4



ISBN 5-89481-351-4

© Кишкун А. А., 2006  
© Оформление. ООО «Медицинское информационное агентство», 2006

## Содержание

Список сокращений.....	8
Предисловие.....	12
Глава I. Иммунологические исследования .....	14
1.1. Алгоритм иммунного ответа организма .....	14
1.2. Реакции гиперчувствительности .....	25
1.3. Комплексное исследование иммунного статуса организма.....	27
1.3.1. Гуморальный иммунитет .....	31
1.3.2. Клеточный иммунитет .....	56
1.3.3. Антигеннеспецифические факторы иммунной защиты организма .....	74
1.3.4. Оценка результатов комплексного исследования иммунного статуса .....	98
1.4. Исследование главного комплекса гистосовместимости (HLA-типирование).....	111
1.5. Фенотипирование гемобластозов.....	121
1.6. Анализ клеточного цикла клеток костного мозга по содержанию ДНК.....	131
1.7. Диагностика ревматических заболеваний .....	133
1.7.1. Клетки красной волчанки в крови.....	135
1.7.2. Титр антител к нуклеарным антигенам (антинуклеарный фактор) в сыворотке крови.....	136
1.7.3. Антитела к двуспиральной ДНК в сыворотке крови.....	141
1.7.4. Антитела к односпиральной ДНК в сыворотке крови.....	142
1.7.5. Антитела к экстрагированным ядерным антигенам в сыворотке крови.....	143
1.7.6. Антицентрометрические антитела в сыворотке крови .....	145
1.7.7. Антитела к гистонам в сыворотке крови .....	146

1.7.8.	Антитела к аминокислотсинтетазе tPHK в сыворотке крови.....	146
1.7.9.	Антитела к рибосомальным Р-протеинам в сыворотке крови.....	148
1.7.10.	Активность дезоксирибонуклеазы I в сыворотке крови.....	148
1.7.11.	Антитела к $\alpha$ -фодрину в сыворотке крови.....	149
1.7.12.	Ревматоидный фактор в сыворотке крови.....	150
1.7.13.	Антитела к циклическому штруллиновому пептиду в сыворотке крови.....	152
1.7.14.	Антитела к кератину в сыворотке крови.....	154
1.7.15.	Антистрептолизин-О в сыворотке крови.....	157
1.7.16.	Антидезоксирибонуклеаза В в сыворотке крови.....	158
1.7.17.	Антитела к гиалуронидазе в сыворотке крови.....	159
1.7.18.	C-реактивный белок в сыворотке крови.....	159
1.8.	Диагностика антифосфолипидного синдрома.....	164
1.8.1.	Антитела к кардиолипину в сыворотке крови.....	168
1.8.2.	Антитела к $\beta$ -2-гликопротеину I в сыворотке крови.....	170
1.8.3.	Волчаночный антикоагулянт в плазме крови.....	171
1.8.4.	Антитела к протромбину в плазме крови.....	174
1.8.5.	Антитела к аннексину V в плазме крови.....	175
1.8.6.	Антитела к фосфатидилсерину в сыворотке крови.....	178
1.9.	Диагностика аутоиммунных заболеваний.....	178
1.9.1.	Диагностика аутоиммунных заболеваний щитовидной железы.....	184
1.9.2.	Диагностика аутоиммунных повреждений поджелудочной железы.....	190
1.9.3.	Диагностика аутоиммунных повреждений надпочечников.....	193
1.9.4.	Диагностика аутоиммунных заболеваний репродуктивной системы.....	194
1.9.5.	Диагностика аутоиммунных заболеваний печени.....	196
1.9.6.	Диагностика системных васкулитов.....	209
1.9.7.	Диагностика аутоиммунных повреждений миокарда.....	213
1.9.8.	Диагностика аутоиммунных заболеваний нервной системы.....	215
1.9.9.	Диагностика аутоиммунных заболеваний почек.....	222
1.9.10.	Диагностика аутоиммунных заболеваний желудочно-кишечного тракта.....	225
1.9.11.	Диагностика аутоиммунных повреждений слухового анализатора.....	233

1.9.12. Диагностика аутоиммунной гемолитической анемии .....	234
1.10. Исследование онкомаркеров .....	239
1.10.1. Альфа-фетопротеин в сыворотке крови .....	242
1.10.2. Раково-эмбриональный антиген в сыворотке крови .....	244
1.10.3. Карбогидратный антиген СА 19-9 в сыворотке крови .....	245
1.10.4. Муциноподобный ассоциированный антиген в сыворотке крови.....	247
1.10.5. Раковый антиген СА 125 в сыворотке крови .....	248
1.10.6. Карбогидратный антиген СА 72-4 в сыворотке крови .....	250
1.10.7. Раковый антиген СА 15-3 в сыворотке крови .....	251
1.10.8. Бета-хорионический гонадотропин в сыворотке крови .....	252
1.10.9. Антиген плоскоклеточной карциномы в сыворотке крови.....	254
1.10.10. Простатический специфический антиген в сыворотке крови .....	254
1.10.11. Свободный простатический специфический антиген в сыворотке крови .....	258
1.10.12. Нейронспецифическая енолаза в сыворотке крови .....	259
1.10.13. CYFRA-21-1 в сыворотке крови .....	260
1.10.14. Онкомаркер HER-2/неи в сыворотке крови .....	261
1.10.15. Онкомаркер СА 242 в сыворотке крови .....	263
1.10.16. Опухолевый антиген мочевого пузыря (ВТА) в моче.....	263
1.10.17. Бета-2-микроглобулин в сыворотке крови и моче .....	265
1.10.18. Пируваткиназа М2-типа в сыворотке крови .....	266
1.10.19. Алгоритм исследования онкомаркеров .....	267
<b>Глава 2. Серологические исследования .....</b>	<b>272</b>
2.1. Диагностика сифилиса .....	276
2.1.1. Реакция микропреципитации с кардиолипидным антигеном .....	283
2.1.2. Реакция Вассермана с кардиолипидным и трепонемным антигенами .....	286
2.1.3. Реакция пассивной гемагглютинации .....	289
2.1.4. Реакция иммунофлюоресценции .....	289
2.1.5. Иммуноферментный метод диагностики сифилиса .....	290
2.1.6. Метод диагностики сифилиса на основе гелевых технологий.....	294
2.2. Диагностика вирусных инфекций .....	295
2.2.1. ВИЧ-инфекция.....	295

2.2.2.	Вирусные гепатиты .....	310
2.2.3.	Герпетическая инфекция .....	335
2.2.4.	Ветряная оспа .....	338
2.2.5.	Инфекционный мононуклеоз .....	339
2.2.6.	Цитомегаловирусная инфекция .....	346
2.2.7.	Корь .....	352
2.2.8.	Вирусный паротит .....	353
2.2.9.	T-клеточный лейкоз .....	354
2.2.10.	Краснуха .....	357
2.2.11.	Грипп .....	360
2.2.12.	Парагрипп .....	361
2.2.13.	Аденовирусная инфекция .....	362
2.2.14.	Респираторно-синцитиальная инфекция .....	363
2.2.15.	Коксаки-инфекция .....	364
2.2.16.	Инфекционная эритема .....	364
2.2.17.	Медленные инфекции .....	367
2.2.18.	Синдром хронической усталости .....	369
2.3.	Диагностика бактериальных инфекций .....	371
2.3.1.	Сепсис .....	372
2.3.2.	Инфекции, вызываемые стрептококками А, В, С, D, F, G .....	381
2.3.3.	Инфекции, вызываемые стафилококками .....	385
2.3.4.	Инфекции, вызываемые пневмококками .....	385
2.3.5.	Инфекции, вызываемые гемофильной палочкой .....	386
2.3.6.	Менингококковая инфекция .....	387
2.3.7.	Бруцеллез .....	388
2.3.8.	Сальмонеллезная инфекция .....	390
2.3.9.	Туберкулез .....	395
2.3.10.	Дифтерия .....	396
2.3.11.	Коклюш .....	397
2.3.12.	Легионеллез .....	399
2.3.13.	Иерсиниоз .....	401
2.3.14.	Псевдотуберкулез .....	403
2.3.15.	Болезнь Лайма .....	404
2.3.16.	Туляремия .....	407
2.3.17.	Лептоспироз .....	408
2.3.18.	Кампилобактериоз .....	409
2.3.19.	Хеликобактериоз .....	410
2.3.20.	Хламидийная инфекция .....	415

2.3.21. Микоплазменная инфекция .....	427
2.3.22. Гонорея .....	434
2.4. Диагностика инфекций, вызываемых простейшими .....	435
2.4.1. Амебиаз .....	435
2.4.2. Токсоплазмоз .....	437
2.4.3. Лямблиоз .....	444
2.4.4. Криптоспоридиоз .....	446
2.4.5. Малярия .....	447
2.5. Диагностика паразитарных инфекций .....	448
2.5.1. Эхинококкоз .....	448
2.5.2. Токсокароз .....	451
2.5.3. Трихинеллез .....	452
2.5.4. Описторхоз .....	454
2.6. Диагностика грибковых инфекций .....	455
2.6.1. Аспергиллез .....	455
2.6.2. Кандидоз .....	457
2.6.3. Кокцидиоидоз .....	460
2.6.4. Пневмоцистоз .....	462
2.6.5. Криптококкоз .....	463
2.6.6. Гистоплазмоз .....	465
2.7. Диагностика перинатальных инфекций .....	466
2.8. Полимеразная цепная реакция в диагностике инфекционных заболеваний .....	469
2.8.1. Обнаружение вируса гепатита С .....	471
2.8.2. Обнаружение вируса гепатита В .....	476
2.8.3. Обнаружение вируса иммунодефицита человека .....	478
2.8.4. Обнаружение цитомегаловируса .....	480
2.8.5. Обнаружение вируса папилломы человека .....	480
2.8.6. Обнаружение микобактерий туберкулеза .....	482
2.8.7. Обнаружение <i>Helicobacter pylori</i> .....	483
2.8.8. Обнаружение гонококков .....	490
2.8.9. Обнаружение микоплазм .....	490
2.8.10. Обнаружение <i>Chlamidia trachomatis</i> .....	491
2.8.11. Обнаружение токсинов <i>Clostridium difficile</i> .....	493
2.8.12. Обнаружение метициллинрезистентных стафилококков .....	494
<b>Приложения</b> .....	497
<b>Список литературы</b> .....	504
<b>Указатель тестов</b> .....	524

## Список сокращений

$\beta_1$ -АР	— $\beta_1$ -адренорецепторы
$\beta_2$ -МГ	— бета-2-микроглобулин
АГМ	— антитела к гладкой мускулатуре
АДФ	— аденозиндифосфат
АКТГ	— адренокортикотропный гормон
АЛТ	— аламинотрансфераза
АМА	— антимиохондриальные антитела
АНА	— антинуклеарные антитела
Анти-LSP	— антитела к печеночно-специфическому липопротеину
Анти-БМК	— антитела к базальной мембране клубочков
Анти-ВГС	— антитела к вирусу гепатита С
Анти-ВФ	— антитела к внутреннему фактору
Анти-ОБМ	— антитела к основному белку миелина
Анти-ПК	— антитела к париетальным клеткам
Анти-ПРК3	— антитела к протеинкиназе-3
Анти-РАХ	— антитела к рецептору ацетилхолина
АНЦА	— антитела к цитоплазме нейтрофилов
АПК	— антигенпрезентирующие клетки
АСЛО	— антистрептолизин-О
АСТ	— аспартатаминоансфераза
АТФ	— аденозинтрифосфат
АФП	— $\alpha$ -фетопротеин
АФС	— антифосфолипидный синдром
АЧТВ	— активированное частичное тромбопластиновое время
БТЦ	— болезни тяжелых цепей
ВА	— волчаночный антикоагулянт
ВГD	— вирус гепатита D
ВГВ	— вирус гепатита В

ВГЕ	— вирус гепатита Е
ВГС	— вирус гепатита С
ВИЧ	— вирус иммунодефицита человека
ВОЗ	— Всемирная организация здравоохранения
ГТФ	— гуанозинтрифосфат
ДКМП	— идиопатическая дилатационная кардиомиопатия
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКТ	— желудочно-кишечный тракт
ИБС	— ишемическая болезнь сердца
ИЗСД	— инсулинозависимый сахарный диабет
ИФА	— иммуноферментный анализ
к-АНЦА	— классические (диффузные) АНЦА
Кона	— конканавалин А
КСР	— комплекс серологических реакций на сифилис
КСФ	— колониестимулирующий фактор
ЛАЛ	— лизат амебоцитов сухопутного краба <i>Limulus Polyphemus</i>
ЛДГ	— лактатдегидрогеназа
ЛКТ	— лизосомально-катионный тест
МЕ	— международная единица
МР	— микрореакция преципитации
МСА	— муциноподобный ассоциированный антиген
НИФ	— непрямая иммуофлюоресценция
НСЕ	— нейронспецифическая енолаза
НСТ	— нитросиний тетразолий
ОМ	— онкомаркер
ОМГ	— окислительный метаболизм гранулоцитов
п-АНЦА	— перинуклеарные АНЦА
ПБЦ	— первичный билиарный цирроз
ПГЭ	— полигландулярная эндокринопатия
ПК-М2	— пируваткиназа М2-типа
ПСА	— простатический специфический антиген
ПСХ	— первичный склерозирующий холангит
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
РАХ	— рецептор ацетилхолина
РБТЛ	— реакция бластной трансформации лимфоцитов
РВ	— реакция Вассермана
РИА	— радиоиммунный анализ



РИТ	— реакция иммобилизации бледных трепонем
РИФ	— реакция иммунофлюоресценции
РН	— реакция нейтрализации
РНГА	— реакция непрямой гемагглютинации
РНК	— рибонуклеиновая кислота
РПГА	— реакция пассивной гемагглютинации
РСК	— реакция связывания комплемента
РТГА	— реакция торможения гемагглютинации
РТМЛ	— реакция торможения миграции лейкоцитов
РФ	— ревматоидный фактор
РЭА	— раково-эмбриональный антиген
СКВ	— системная красная волчанка
СМЖ	— спинномозговая жидкость
СОЭ	— скорость оседания эритроцитов
СПИД	— синдром приобретенного иммунодефицита
СРБ	— С-реактивный белок
ССВО	— синдром системного воспалительного ответа
T <sub>3</sub>	— трийодтиронин
T <sub>4</sub>	— тироксин
ТГ	— тиреоглобулин
ТПО	— тиреопероксидаза
ТТГ	— тиреотропный гормон
T <sub>H</sub> /T <sub>c</sub>	— Т-хелперы/Т-супрессоры
ФГА	— фитогемагглютинин
ФИТЦ	— флюоресцирующий изотиоцианат
ФСГ	— фолликулостимулирующий гормон
ХГ	— хорионический гонадотропин
цАМФ	— циклический аденозинмонофосфат
цГМФ	— циклический гуанозинмонофосфат
ЦИК	— циркулирующие иммунные комплексы
ЦМВ	— цитомегаловирус
ЦНС	— центральная нервная система
Anti-A-CHO	— антитела к полисахариду стрептококка группы А
Anti-dsDNA	— антитела к двуспиральной ДНК
Anti-ssDNA	— антитела к односпиральной ДНК
CD	— кластеры дифференцировки
EA (early antigen)	— ранний антиген

Список сокращений

EBNA	— Epstein—Barris nucleic antigen — ядерный антиген вируса Эпштейна—Барр
ENA	— антитела к экстрагированным ядерным антигенам
GAD	— декарбоксилаза глутаминовой кислоты
HBcAg	— ядерный антиген гепатита В
HBsAg	— поверхностный антиген гепатита В
HLA	— Human Leucocyte Antigens — главный комплекс гистосовместимости
HSV	— герпес-вирус
HTLV	— human T-lymphotropic virus — Т-лимфотропный вирус человека
Ig	— иммуноглобулин
IL	— интерлейкин
LE-клетки	— клетки красной волчанки
LKM	— микросомальный антиген печени и почек
LPS	— липополисахарид
NK	— естественные киллеры
NO	— оксид азота
RPR (Rapid Plasma Reagin)	— микрореакция преципитации плазмы с кардиолипиновым антигеном
SCC	— антиген плоскоклеточной карциномы
Th	— Т-хелперы
TNF	— фактор некроза опухолей
VCA	— virus capsid antigen — антиген вирусного капсида вируса Эпштейна—Барр
VCA (virus capsid antigen)	— антиген вирусного капсида
VDRL (Venereal Disease Research Laboratory)	— микрореакция преципитации инактивированной сыворотки с кардиолипиновым антигеном
ВТА	— опухолевый антиген мочевого пузыря
PIg	— патологические иммуноглобулины

## Предисловие

В настоящее время созданы новые диагностические технологии, позволяющие выявлять этиологические агенты и патогенетические факторы многих заболеваний и коренным образом изменяющие результаты лечения. Пожалуй, наиболее впечатляющие результаты внедрения этих технологий достигнуты в области иммунологии и диагностики инфекционных заболеваний.

В области клинической иммунологии эти достижения связаны с использованием моноклональных антител для иммунофенотипической характеристики клеток крови. Традиционные морфологические и цитохимические исследования клеток субстрата болезни (кровь, костный мозг, лимфатические узлы, селезенка и т. д.) во многих случаях, особенно при лимфопролиферативных заболеваниях, не позволяли выявить все многообразие вариантов среди морфологически сходных форм и установить источник происхождения патологического клона. Вместе с тем каждой стадии дифференцировки гемопоэтических клеток соответствует свой набор антигенов, которые, по Международной классификации, называются дифференцировочными и разделяются на кластеры дифференцировки, обозначаемые CD. Использование моноклональных антител к различным кластерам дифференцировки позволяет не только установить происхождение патологических клеток, но и значительно улучшить результаты лечения. Например, внедрение иммунофенотипирования позволило разработать программу терапии различных форм острых лейкозов у детей. Острый лимфобластный лейкоз у детей из предшественников В-клеток (маркеры DR<sup>+</sup>, CD10<sup>+</sup>) — самый частый (75 % всех случаев) вариант болезни; программа его лечения сегодня состоит из месяца индукции и двух лет поддерживающей терапии. Результат — 70 % выздоровлений.

Внедрение в клиническую практику тест-систем на основе иммуноферментного и иммунохемиллюминесцентного анализа, которые

способны выявлять антитела различных классов, позволило значительно повысить информативность серологических методов диагностики инфекционных заболеваний, их клиническую и аналитическую чувствительность и специфичность.

Однако наиболее значительные успехи в диагностике инфекций связаны с внедрением в практику лабораторий метода полимеразной цепной реакции. За короткий срок использование этого метода стало «золотым стандартом» в диагностике ряда инфекционных заболеваний и оценке эффективности проведенного лечения. Кроме того, полимеразная цепная реакция позволила осуществлять быструю этиологическую диагностику многих инфекций (в течение 1 дня), о наличии которых прежде врачом-клиницистом высказывалось только предположительное мнение. Количественная постановка полимеразной цепной реакции — также реальность современной клинической практики, а *впереди еще использование этого метода для определения природной и приобретенной антибиотикорезистентности возбудителей инфекционных заболеваний.*

Разнообразие иммунологических и серологических методов лабораторных исследований, многогранность и сложность информации, которую несут результаты этих анализов, вызывают определенные сложности у практикующих врачей. Помочь врачу-клиницисту разобраться в этом большом потоке лабораторной информации, выбрать нужные тесты для диагностики болезни и правильно оценить их результаты — главная цель настоящей книги.

## Глава 1

# Иммунологические исследования

Иммунная система выполняет функцию защиты организма от чужеродных агентов и от измененных потенциально опасных собственных компонентов. Термин «иммунный» происходит от латинского «свободный от». Иммунные механизмы отражают действие взаимосвязанных между собой клеток, тканей и органов, совокупность которых и называется иммунной системой.

### 1.1. АЛГОРИТМ ИММУННОГО ОТВЕТА ОРГАНИЗМА

Каждый человек отличается индивидуальной реактивностью своей иммунной системы в отношении различных возбудителей инфекционных заболеваний. Однако, несмотря на это, формируемый иммунный ответ в отношении инфекционных агентов имеет общие для всех закономерности.

В обеспечении защиты организма от инфекционных агентов участвует целый ряд эффекторных механизмов [Кашкин К. П., Бехало В. А., 2004], которые:

- противодействуют внедрению и распространению инфекционного агента в организме;
- оказывают на возбудителя инфекционного заболевания цитостатическое и цитотоксическое действие;
- нейтрализуют разнообразные факторы агрессии и патогенности микроорганизмов и продукты их жизнедеятельности;

- удаляют чужеродные антигены из сосудистого русла и организма человека;
- «запоминают» пространственную конфигурацию чужеродных антигенов с тем, чтобы при повторном контакте с ними иммунный защитный эффект был более быстрым и эффективным.

Иммунные факторы защиты разделяют на две категории — антигеннеспецифические (врожденные) и антигенспецифические (приобретенные, адаптивные). Врожденные факторы защиты неспецифичны, действуют без участия механизмов распознавания и запоминания строения инфекционного агента, поэтому представляют одни и те же реакции на любой стимул при инвазии или повреждении. Приобретенные факторы способны распознавать и запоминать особенности молекулярной структуры инфекционного агента, в связи с чем при повторных контактах с ним защитный эффект может быть более быстрым и эффективным. В процессе иммунной защиты организма от инфекции антигеннеспецифические и антигенспецифические группы факторов тесно взаимосвязаны и взаимодействуют друг с другом.

К антигеннеспецифическим факторам иммунной защиты относятся:

- клетки пограничных тканей (кожа, слизистые оболочки дыхательных путей, пищеварительного и урогенитального тракта);
- резидентные клетки различных органов и тканей;
- клетки крови;
- эндотелиоциты и интима артерий;
- циркулирующие и выделяемые с секретами водорастворимые молекулы — антигеннеспецифические гуморальные факторы.

Неповрежденные пограничные ткани представляют надежную преграду для проникновения инфекционных агентов в организм. При повреждении этого защитного барьера или его преодолении и проникновении инфекционных агентов в организм их захватывают и уничтожают дендритные клетки и макрофаги подслизистых оболочек.

В случае проникновения инфекционных агентов через пограничные ткани происходит активация резидентных клеток различных органов и тканей, которые вовлекаются в локальный воспа-

длительный процесс и одновременно продуцируют разнообразные хемотаксические вещества, цитокины, эйкозаноиды и другие медиаторы воспаления. Под влиянием инфекционных агентов, продуктов их расщепления и медиаторов воспаления активируются эндотелиальные клетки близлежащих сосудов, а затем — циркулирующие клетки крови.

Среди антигеннеспецифических гуморальных факторов иммунной защиты наибольшее значение имеет система комплемента, состоящая из 25–30 сывороточных и мембранных белков, которые участвуют в каскадной реакции (аналогичной механизму коагуляции, фибринолиза и образования кининов), приводящей к различным биологическим результатам. В обычном состоянии участвующие в каскаде протеины неактивны. Для их инициации необходим какой-либо стимул, после воздействия которого в реакциях каскада продукт одной реакции выполняет роль катализатора для осуществления следующей. Активация системы комплемента происходит при взаимодействии с продуктами инфекционных агентов, маннансвязывающим белком сыворотки крови, С-реактивным белком и иммунными комплексами. Конечные белки активированной системы комплемента образуют мультимолекулярные комплексы, которые выполняют три основные функции: 1) стимуляция острых воспалительных реакций; 2) видоизменение поверхностей антигена для увеличения эффективности процесса фагоцитоза; 3) модификация клеточных мембран инфекционного агента, ведущая к лизису микроорганизма (формируют в мембране клеток, содержащих инфекционные агенты, водные каналы, благодаря чему в клетки поступает вода и они подвергаются лизису). Эти реакции предназначены для борьбы с проникшими извне бактериями, обеспечивают защиту от вирусных инфекций, элиминируют белковые комплексы и активируют развитие иммунных процессов.

Рецепторы к различным субкомпонентам системы комплемента имеют также эритроциты (фиксируют на себе иммунные комплексы и обеспечивают их транспортировку в печень и селезенку, а также их элиминацию), тучные клетки и базофилы, клетки гладкой мускулатуры, дендритные клетки селезенки и лимфоузлов, В-лимфоциты, некоторые субпопуляции Т-лимфоцитов и клетки естественных киллеров (NK-клетки). Эти рецепторы обеспечивают длительное депонирование антигенных комплексов в дендритных

клетках и активное взаимодействие этих антигенпрезентирующих клеток (АПК) и В-лимфоцитов. В результате этого взаимодействия усиливается пролиферация антигенспецифических В-лимфоцитов и их дифференцировка в долгоживущие малые В-лимфоциты — хранители иммунологической памяти.

Врожденные или приобретенные дефекты синтеза белков системы комплемента и их рецепторов проявляются предрасположенностью к гнойным инфекционным заболеваниям, инфекциям, вызываемым бактериями, содержащими капсулу, и склонностью к развитию аутоиммунных процессов. Повышенная активность белков системы комплемента, связанная с врожденным или приобретенным дефектом синтеза ингибитора компонента С1 системы комплемента (в крови повышена активность С3а- и/или С5а-компонента), проявляется развитием псевдоаллергического ангионевротического отека.

Одним из составляющих компонентов антигеннеспецифического механизма иммунной защиты от возбудителей инфекционных заболеваний является фагоцитарная система крови, которая представлена в основном гранулоцитами (нейтрофильные, эозинофильные и, в меньшей степени, базофильные лейкоциты) и макрофагами. Нейтрофильные лейкоциты способны захватывать, убивать и переваривать разнообразные внеклеточно размножающиеся инфекционные агенты. Для выполнения этих функций лейкоциты генерируют активные формы кислорода (супероксид-анион-радикал, пероксид водорода, гидроксильный радикал, синглетный кислород и др.) и множество дезинфектантов, образующихся в фагоцитах при низком рН в присутствии хлора и йода с участием миелопероксидазы (хлорноватистая кислота, надйодная кислота, хлорамин и др.). Базофильные лейкоциты продуцируют гистамин и несут на своей поверхности рецепторы к IgE, поэтому вместе с тучными клетками обуславливают развитие аллергического воспаления.

Функциональное состояние нейтрофильных лейкоцитов играет решающую роль в уничтожении внеклеточно размножающихся микроорганизмов, в особенности при остром воспалительном процессе.

Моноциты имеют первостепенное значение в уничтожении внутриклеточно развивающихся инфекционных агентов (хламидии, легионеллы, микоплазмы, риккетсии). Это обусловлено их способ-



ностью фагоцитировать инфицированные микроорганизмами и вирусами соматические клетки, прерывая дальнейшее распространение инфекции. Нарушение или недостаточность фагоцитарной активности моноцитов — главная причина хронического течения инфекционного заболевания [Кашкин К. П., Бехало В. А., 2004].

При хронических гранулематозных инфекциях (туберкулез, лепра, кокцидиозный микоз и др.) моноциты крови в инфицированных органах способны дифференцироваться в многоядерные блестящие и эпителиоидные клетки, которые образуют вокруг инфекционного агента гранулемы. Гранулема ограничивает размножение возбудителя, удерживает его на одном месте и препятствует распространению в организме.

К антигеннеспецифическим факторам иммунной защиты организма относятся НК-клетки (естественные киллеры) крови. Основными мишенями НК-клеток являются инфицированные вирусами и микроорганизмами, а также опухолевые клетки. В отличие от лимфоцитов, НК-клетки не способны узнавать антиген и формировать приобретенный иммунитет.

Антигеннеспецифические факторы иммунной защиты организма от инфекции играют важнейшую роль в первые часы и дни течения инфекционного заболевания. Для выявления возможного дефекта в этой системе иммунитета требуется проведение комплекса лабораторных тестов, отражающих состояние каждого ее звена.

Антигенспецифическими компонентами иммунной системы являются Т- и В-лимфоциты и антитела. Из всех клеток иммунной системы только лимфоциты способны распознавать антиген, взаимодействовать с ним и обеспечивать формирование иммунологической памяти. Для выполнения своих специфических функций Т- и В-лимфоциты содержат антигенраспознающие рецепторы, которые имеют внеклеточный, трансмембранный и цитоплазматический участки. Каждый лимфоцит имеет множество антигенраспознающих рецепторов. Взаимодействие этих рецепторов Т- и В-лимфоцитов с инфекционными агентами является первым сигналом для активации лимфоцитов и последующей их пролиферации и/или дифференцировки. В дальнейшем сигналы для реализации иммунного ответа на антиген подаются посредством цитокинов (интерлейкины — ИЛ-2, ИЛ-12, ИЛ-4 и др.) и прямым взаимодействием антигенов с рецепторами. В результате антигенной активации в организме человека



накапливаются лимфоциты антигенреактивного клона, которые и обеспечивают защиту от данного вида инфекционных агентов.

В первичном иммунном ответе участвуют наивные Т- и В-лимфоциты, ранее не вступавшие в контакт с данным видом инфекционных агентов. Кроме того, лимфоциты сами по себе не могут взаимодействовать непосредственно с антигеном. Для этого необходима предварительная модификация антигена и его представление наивным Т- и В-лимфоцитам. При первичном иммунном ответе в качестве АПК выступают дендритные клетки. В результате взаимодействия с антигеном и пролиферации наивных лимфоцитов соответствующего клона накапливаются иммунные лимфоциты, которые затем распространяются по всему организму и при повторном инфицировании могут взаимодействовать и отвечать на антиген в любых органах и тканях. Через некоторое время большая часть размножившихся лимфоцитов погибает путем апоптоза, но меньшая часть может дифференцироваться в малые лимфоциты (клетки иммунологической памяти), способные без деления сохраняться в организме в течение нескольких лет. Благодаря их присутствию в организме любое повторное инфицирование данным возбудителем стимулирует быструю дифференцировку и деление соответствующего клона лимфоцитов, а также защиту организма. Приобретенный иммунитет сохраняется до тех пор, пока в организме человека присутствуют малые Т- и В-лимфоциты антигенреактивного клона.

Популяция Т-лимфоцитов представлена различными типами клеток, несущими на своей клеточной мембране кластеры дифференцировки (CD). Наибольшее значение в формировании алгоритма иммунного ответа организма на инфекционные агенты имеют Т-хелперы (CD4) и Т-супрессоры (цитотоксические лимфоциты CD8). Т-супрессоры имеют рецепторы к антигенам и способны взаимодействовать с ними, если антигены находятся на поверхности любых соматических клеток в комплексе с белками А, В, С главного комплекса гистосовместимости (HLA). Такое взаимодействие стимулирует Т-супрессоры, обеспечивая их пролиферацию и дифференцировку. Активированные Т-супрессоры выделяют в сторону клетки, содержащей антиген, перфорины и гранзимы, что приводит к активации в них программы апоптоза и гибели. В основном Т-супрессоры уничтожают собственные клетки, несущие чужие антигены (например, содержащие внутриклеточные микроорганизмы, вирус

гриппа, гепатита, токсоплазма, листерии), но могут непосредственно убивать клетки паразитов и грибов. Для образования достаточного количества Т-супрессоров в ответ на инфицирование требуется некоторое время, поэтому этот компонент иммунной защиты включается позднее антигеннеспецифических факторов [Кашкин К. П., Бехало В. А., 2004].

Т-хелперы (Th) путем прямого взаимодействия с вспомогательными клетками, Т- и В-лимфоцитами, а также посредством продуцируемых ими цитокинов управляют иммунным ответом. В зависимости от продуцируемых Т-хелперами цитокинов различают субпопуляции типов Th0, Th1, Th2 и Th3. Th0 являются предшественниками всех остальных типов клеток. Направленность дифференцировки Th0 в тот или иной тип Т-хелперов определяется свойствами клеток, представляющих антиген, количеством антигена на них, набором цитокинов, воздействующих на Th0, соотношением АПК и Т-лимфоцитов и многими другими факторами. Поскольку различные субпопуляции Т-хелперов секретируют присущий им спектр цитокинов, то они, соответственно, ответственны за различные варианты иммунного ответа (клеточный, гуморальный иммунные ответы, иммунологическая толерантность) в организме человека (схема 1.1).

В случае если Т-лимфоциты-хелперы типа 0 дифференцируются в Th1, то формируется *клеточный иммунный ответ*. Th1 синтезируют цитокины IL-2 и  $\gamma$ -интерферон, которые необходимы для активации и накопления в организме антигенспецифических Т-супрессоров, а также NK-клеток и макрофагов. Эти же цитокины обеспечивают включение у В-лимфоцитов генов, контролирующих синтез антител IgM, и их дифференцировку в плазматические клетки, продуцирующие те же иммуноглобулины. Активированные NK-клетки и макрофаги не только выполняют свои прямые функции, но и продуцируют провоспалительные цитокины и другие медиаторы, вовлекая в воспалительную реакцию все новые и новые резидентные и циркулирующие клетки.

Антигениндуцируемая дифференцировка Т-лимфоцитов-хелперов типа 0 в Th2 и их последующая активация сопровождается усиленной продукцией IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 и других цитокинов. Th2-зависимые цитокины, воздействуя на В-лимфоциты, стимулируют их дифференцировку в плазматические клетки, се-

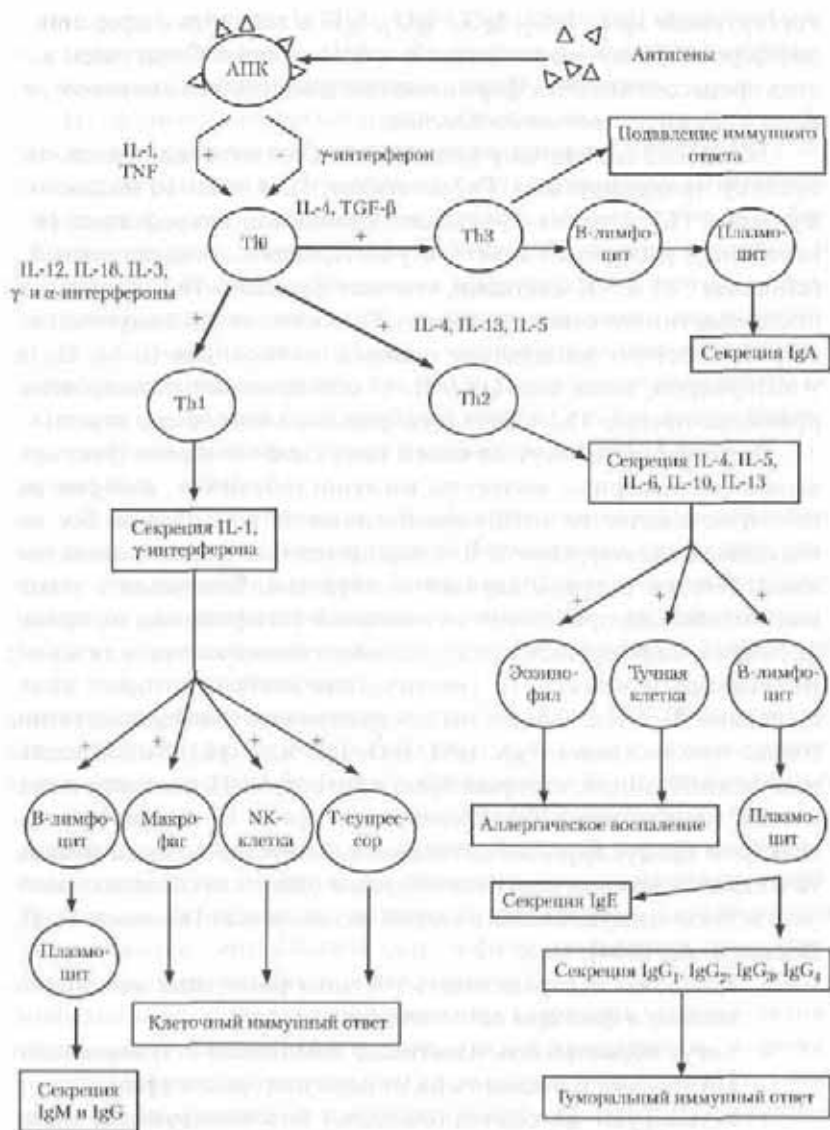


Схема 1.1. Алгоритм иммунного ответа

критерирующие IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub>, IgE, а также пролиферацию и дифференцировку эозинофилов и тучных клеток. Следствием всех этих процессов является формирование *гуморального иммунного ответа или аллергического воспаления*.

Th1 и Th2 находятся в реципрокных взаимоотношениях, поскольку продуцируемые Th2-клетками IL-4 и IL-10 подавляют функцию Th1, а также продукцию цитокинов макрофагами (т. е. клеточный иммунный ответ), а  $\gamma$ -интерферон, секретируемый в основном Th1 и NK-клетками, угнетает функцию Th2. Направленности иммунного ответа в сторону Th1 (клеточный иммунный ответ) способствует воздействие таких цитокинов, как IL-12, IL-18,  $\gamma$ -интерферон, тогда как IL-4 и IL-13 обеспечивают формирование преимущественно Th2-ответа (гуморального иммунного ответа).

В-лимфоциты несут на своей наружной мембране фиксированные мономерные молекулы иммуноглобулинов, которые используют в качестве антигенраспознающих рецепторов. Все находящиеся на поверхности В-лимфоцитов иммуноглобулины взаимодействуют с одним вариантом антигена. В результате такого взаимодействия происходит активация В-лимфоцитов, их пролиферация и дифференцировка в плазматические клетки или малые В-лимфоциты памяти. Плазматические клетки, которые живут в среднем 2–3 нед., способны продуцировать иммуноглобулины только одного класса (IgA, IgM, IgG, IgD или IgE). Выбор класса иммуноглобулинов, который будет синтезировать плазматическая клетка, определяется Т-хелперами (их типом и, соответственно, спектром продуцируемых цитокинов). Синтезированные плазматическими клетками иммуноглобулины (антитела) обладают множественной иммунобиологической активностью [Кашкин К. П., Бехало В. А., 2004]. Они:

- способны нейтрализовать токсины различных микроорганизмов и факторы патогенности вирусов;
- могут образовывать иммунные комплексы с чужеродными антигенами и выводить их из циркуляторного русла;
- активируют фагоцитоз (обладают опсонизирующей активностью) и систему комплемента;
- способны усиливать (IgM) или подавлять (IgG) гуморальный иммунный ответ;
- антитела класса IgE запускают аллергическое воспаление;

- антитела класса IgA, выделяясь с различными секретами (секреторный IgA — sIgA), обеспечивают защиту от инфекционных агентов пограничных тканей организма.

Исход любого инфекционного заболевания определяется свойствами возбудителя, количеством инфекционных агентов, их способностью размножаться и противостоять механизмам антиинфекционного иммунитета, набором и активностью антигеннеспецифических и антигенспецифических эффекторных факторов иммунной защиты. В большинстве случаев на инфекционные агенты иммунная система отвечает сочетанно — как врожденными, так и приобретенными механизмами. Однако значимость антигеннеспецифических и антигенспецифических механизмов иммунной защиты от различных инфекционных агентов и даже на разных этапах инфекционного процесса может существенно варьировать [Кашкин К. П., Бехало В. А., 2004].

При гнойных инфекциях, возбудителями которых являются микроорганизмы, размножающиеся внеклеточно, решающее значение в уничтожении инфекционных агентов и иммунной защите организма имеют нейтрофильные полиморфно-ядерные лейкоциты. Они играют важнейшую роль и в уничтожении большинства бактерий, содержащих капсулярную оболочку. В свою очередь полисахариды, входящие в состав капсул бактерий, способны угнетать фагоцитарную активность макрофагов. Аналогичную роль выполняют поверхностный М-белок и продуцируемые стрептококками А стрептолизины О и S, а также экзотоксины стафилококков. Для преодоления этого механизма защиты бактерий в организме человека синтезируются антитела к капсульным полисахаридам, стрептолизинам, экзотоксинам, активизируется система комплемента и увеличивается синтез белков острой фазы (опсонизирующие факторы). Соответственно, в оценке иммунного ответа при гнойных инфекциях ведущее значение имеют исследования уровня и активности компонентов системы фагоцитоза и комплемента, содержания специфических антител (антитела к поверхностным антигенам, антитела IgG2, которые у человека вырабатываются против полисахаридных антигенов, антистрептолизин-О и др.) и белков острой фазы (С-реактивный белок и др.).

При инфицировании организма возбудителями, размножающимися внутриклеточно (риккетсии, хламидии, легионеллы, микро-

плазмы и др.), алгоритм иммунного ответа несколько иной. В начале заболевания в местах внедрения возбудителя защита от инфекта осуществляется нейтрофильными лейкоцитами. Однако при ее недостаточности возбудитель распространяется и накапливается в соматических клетках человека. Уничтожение инфицированных клеток и находящихся в них возбудителей осуществляют в основном циркулирующие и тканевые макрофаги. При попадании в макрофаги возбудители подавляют образование в них фаголизосом (риккетсии, хламидии) и продукцию активных форм кислорода (хламидии). Если механизмы фагоцитоза макрофагальной системы оказываются несостоятельными, инфекционные агенты размножаются в макрофагах, что приводит к развитию хронического инфекционного процесса. В свою очередь опсонизирующие антитела, система комплемента и Th1-зависимые цитокины (IL-2 и  $\gamma$ -интерферон), наоборот, оказывают на макрофаги стимулирующее воздействие, способствуя уничтожению возбудителей и выздоровлению. Для выявления нарушений в иммунном ответе при внутриклеточных инфекциях, помимо исследования уровня и активности компонентов системы фагоцитоза и комплемента, важное значение имеет определение содержания Th1-зависимых цитокинов. Установление локализации дефекта в иммунном ответе позволяет индивидуально подходить к лечению пациента, используя различные иммуномодуляторы, и добиться его выздоровления.

При инфекциях, возбудители которых активно продуцируют экзотоксины (анаэробы, палочка дифтерии), течение и исход заболевания зависят от способности иммунной системы продуцировать антитоксические антитела. Такие антитела относятся главным образом к IgG и способны нейтрализовать токсины. В связи с этим адекватность иммунного ответа может быть оценена на основании определения уровня специфических антител к токсину.

Спирохеты, ряд патогенных грибов и бактерий размножаются как внутри-, так и внеклеточно. Вирусы же размножаются только внутриклеточно, но могут длительное время находиться внеклеточно, не оказывая цитогенного действия. В уничтожении возбудителей этих инфекций участвуют антигеннеспецифические и антигенспецифические факторы иммунной защиты. При этом значимость антигенспецифических механизмов противоинфекционного иммунитета возрастает по мере прогрессирования заболевания, но без участия

T-хелперов и T-супрессоров полного выздоровления достичь не удается. Соответственно, для оценки иммунного статуса в начале инфекционного заболевания целесообразно исследовать комплекс показателей, отражающих состояние врожденных и приобретенных механизмов иммунной защиты. В дальнейшем достаточно мониторировать параметры, отражающие состояние клеточного звена иммунитета. Так, накопление у больных острым вирусным гепатитом В T-хелперов и T-супрессоров, специфичных к HBs- и HBe-антигенам вируса, является хорошим прогностическим признаком выздоровления, и наоборот, отсутствие T-клеточного антигенспецифического противовирусного ответа — прогностический признак перехода заболевания в хронический гепатит В [Chosari F., Ferrari C., 1995].

Таким образом, при различных инфекционных заболеваниях на разных стадиях процесса диагностическое и прогностическое значение имеют исследования, отражающие состояние определенных антигеннеспецифических и антигенспецифических факторов иммунной защиты, а их оценка в динамике позволяет контролировать эффективность проводимого лечения.

## 1.2. РЕАКЦИИ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

В 1975 г. Гелл и Кумбе предложили классификацию реакций гиперчувствительности, которая состоит из четырех типов. Первые три типа осуществляются с помощью антител, IV — опосредуется T-лимфоцитами. Ряд авторов выделяют V тип гиперчувствительности (смешанные аллергические реакции).

**I тип гиперчувствительности** — гиперчувствительность немедленного типа, или анафилаксия (отсутствие защиты). При данном типе реакции комплекс антиген—IgE связывается с мембраной тучных клеток или базофилов, что приводит к секреции и выбросу медиаторов: гистамина, хемотаксических факторов, простагландинов, тромбоксанов, лейкотриенов. При действии медиаторов на периферические клетки и ткани развивается местная воспалительная реакция, происходит экссудация и миграция лейкоцитов, отек соединительной ткани (результат дилатации и усиления проницаемости капилляров). Реакция развивается в течение 5–15 мин; исход зависит от органа, в котором происходит аллергическая реакция (наиболее опасна при легочной локализации).



В клинической практике чаще встречаются локальные анафилактические реакции: сенная лихорадка, аллергическая астма, крапивница, пищевая аллергия. Однако наблюдаются и генерализованные проявления этих реакций. Частота встречаемости атопий в человеческой популяции составляет 15–20% [Паттерсон Р. и др., 2000].

**II тип гиперчувствительности** — цитотоксические немедленные реакции опосредуются антителами IgM и IgG, направленными против антигенов собственных клеток. Непосредственное повреждающее действие осуществляют активированная система комплемента или антителозависимые клетки-киллеры (лимфоциты, моноциты). Этот тип гиперчувствительности может быть основным при резус-несовместимости, аутоиммунной гемолитической анемии, лекарственной гемолитической анемии, агранулоцитозе.

**III тип гиперчувствительности** — иммунокомплексные аллергические реакции, опосредованные иммунными комплексами, которые представляют собой комплексы IgM и IgG с антигенами. Образование таких комплексов — естественный процесс, происходящий при нормальном иммунном ответе. Однако если образуется много иммунных комплексов, притом с необычными размерами, в условиях избытка антигена, нарушения их фагоцитоза, то они активируют систему комплемента и вызывают острое воспаление. Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК), проникая в субэндотелиальное пространство и активируя систему комплемента, вызывают развитие васкулита. В дальнейшем происходит агрегация тромбоцитов, ведущая к тромбозу сосудов и последующему некрозу тканей. Данный тип гиперчувствительности лежит в основе реакции Артюса, аллергических альвеолитов, поражений кожи, суставов, почек. Пик воспалительной реакции достигается через 3–6 ч после аппликации антигена.

**IV тип гиперчувствительности** — гиперчувствительность замедленного типа — клеточно-опосредованная (Т-лимфоцитами) реакция, которая развивается через 24–72 ч после внедрения антигена. Первоначально попавший в ткань антиген захватывается макрофагами и представляется Т-лимфоцитам. При этом Т-лимфоциты экспрессируют на своей поверхности рецептор для антигена. Образуется антигенспецифический клон Т-клеток. При повторном попадании антигена Т-клетки посредством своих специфических ре-

цепторов связывают антиген, который вызывает их пролиферацию и выделение лимфокинов. Последние, в свою очередь, локально увеличивают проницаемость сосудов и способствуют инфильтрации лейкоцитами тканей в месте проникновения антигена. Моноциты, макрофаги и гранулоциты, активированные лимфокинами, освобождают в окружающие ткани содержимое гранул (медиаторы, ферменты) и свободные радикалы, повреждая тем самым ткани. Реакции этого типа встречаются при инфекционно-аллергических процессах, контактном дерматите и ряде хронических заболеваний.

**У тип гиперчувствительности** — смешанные аллергические реакции характеризуются сочетанием различных вариантов немедленных и замедленных реакций, которое наблюдается, как правило, при большинстве аутоиммунных и аллергических заболеваний.

### 1.3. КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА ОРГАНИЗМА

В настоящее время клиническая иммунология стала связующим звеном между целым рядом медицинских дисциплин. В ее основные задачи входят диагностика, прогноз и разработка способов лечения заболеваний человека, сопровождающихся различными дефектами иммунной системы. Изменения иммунной системы при заболеваниях необходимо рассматривать не изолированно, а в комплексе с другими важными системами жизнедеятельности организма. Комплексная оценка состояния различных звеньев иммунной системы должна учитывать как количественные, так и качественные изменения показателей иммунитета. Методы клинической иммунологии позволяют решать следующие задачи:

- выявлять дефектность того или иного звена иммунной системы (врожденные и приобретенные иммунодефициты);
- диагностировать аутоагрессию против нормальных компонентов организма (аутоиммунные заболевания) и избыточное накопление иммунных комплексов (болезни иммунных комплексов);
- выявлять дисфункции, при которых в том или ином звене иммунитета развиваются признаки гиперфункции в ущерб функционированию других звеньев (гипергаммаглобулинемия, болезнь тяжелых цепей — БТЦ, миелома и др.);

- осуществлять контроль за эффективностью иммунодепрессивной или иммуностимулирующей терапии;
- проводить типирование и подбор доноров при пересадке органов и контроль за проведением иммунодепрессивной терапии при трансплантациях;
- проводить фенотипирование гемобластозов;
- диагностировать генетическую предрасположенность к соматическим заболеваниям.

Трудоемкость и высокая стоимость иммунологических исследований требует формулировки определенных показаний для их назначения. Таковыми являются следующие заболевания и состояния:

- подозрение на наличие генетически обусловленных дефектов иммунной системы (первичные иммунодефициты);
- аутоиммунные заболевания;
- аллергические состояния и заболевания;
- инфекционные заболевания с затяжным и хроническим течением;
- подозрение на наличие синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД);
- злокачественные новообразования;
- проведение цитостатической, иммунодепрессивной и иммуномоделирующей терапии;
- подготовка к серьезным хирургическим вмешательствам и осложненное течение послеоперационного периода;
- обследование реципиентов до и после аллотрансплантации органов.

Перечисленные показания можно сгруппировать с учетом диагностической значимости иммунологических исследований [Медведев В. В., Волчек Ю. З., 1995].

1. Состояния, при которых иммунологические методы исследования имеют решающее диагностическое значение (первичные иммунодефициты, дисгаммаглобулинемия, миелома, болезнь тяжелых и легких цепей, СПИД, трансплантации и гемотрансфузии).

2. Болезни, при которых оценка иммунного статуса и проведение специальных иммунологических тестов позволяют провести дифференциальную диагностику внутри группы заболеваний (аутоиммунные заболевания, лейкозы, лимфомы и др.).

3. Заболевания, при которых иммунологические исследования помогают оценить степень их тяжести, прогнозировать осложнения и исходы (инфекционные заболевания с затяжным или хроническим течением, оценка степени риска при оперативных вмешательствах), осуществлять текущий контроль за лечением (антибиотикотерапия, применение цитостатиков, иммуномодуляторов и иммунодепрессантов, лучевая терапия и т. д.).

В настоящее время наиболее часто применяется двухэтапный принцип оценки иммунного статуса. На первом этапе с помощью наиболее простых, так называемых ориентировочных, методов выявляются обобщенные характеристики или «грубые» дефекты в системе гуморального и клеточного иммунитета и в системе фагоцитоза. Этим требованиям отвечают следующие иммунологические тесты первого уровня.

**Основные тесты (тесты первого уровня), используемые для оценки иммунного статуса:**

1. Количество лейкоцитов.
2. Количество лимфоцитов.
3. Количество Т-хелперов (CD4).
4. Количество Т-супрессоров (CD8).
5. Индекс соотношения CD4/CD8.
6. Количество Т-лимфоцитов (CD3).
7. Количество Т-лимфоцитов (CD25).
8. Количество нулевых лимфоцитов.
9. Количество В-лимфоцитов (CD20).
10. Спонтанная бластная трансформация лимфоцитов.
11. Активированная бластная трансформация лимфоцитов.
12. Торможение миграции лейкоцитов.
13. Количество иммуноглобулина А.
14. Количество иммуноглобулина М.
15. Количество иммуноглобулина G.
16. Уровень С3-компонента комплемента.
17. Уровень С4-компонента комплемента.
18. Фагоцитарная активность нейтрофилов в крови (фагоцитарное число, фагоцитарный показатель, индекс завершенности фагоцитоза, фагоцитарная емкость крови, количество активных фагоцитов).
19. Окислительный метаболизм гранулоцитов крови (ОМГ-тест).
20. ЦИК в сыворотке крови.

Более тщательный анализ иммунологического статуса целесообразно проводить на втором этапе, если имеются отклонения в ориентирующих тестах или при наличии специальных показаний. Для установления уровня и выраженности иммунологического дефекта, определения механизмов функциональных нарушений определенных звеньев иммунитета рекомендуется проведение следующих тестов, которые называются аналитическими, или тестами второго уровня.

**Дополнительные тесты (тесты второго уровня), используемые для оценки иммунного статуса:**

1. Бактерицидность нейтрофилов в спонтанном и активированном тесте с нитросиним тетразолием (НСТ-тест).
2. Количество IL-2 в сыворотке крови.
3. Количество В-лимфоцитов, несущих IgA в крови.
4. Количество В-лимфоцитов, несущих IgM в крови.
5. Количество В-лимфоцитов, несущих IgG в крови.
6. Гемолитическая активность комплемента в крови.

**Дополнительные тесты для оценки противовирусного, противоопухолевого и трансплантационного иммунитета:**

1. Количество Т-киллеров (CD45).
2. Количество натуральных киллеров (CD56).
3. Колонистимулирующий фактор (КСФ) в сыворотке крови.
4. Фактор некроза опухолей в сыворотке крови.
5. Специфические антитела (титр) в сыворотке крови.
6. Специфические онкомаркеры в сыворотке крови.
7. Бета-2-микроглобулин в сыворотке крови.

**Исследование иммунного статуса в настоящее время включает в себя оценку следующих его компонентов:**

- антигенспецифических (гуморальный и клеточный иммунитет);
- антигеннеспецифических (система неспецифической резистентности организма).

В иммунном ответе организма участвуют антигеннеспецифические и антигенспецифические факторы. При этом антигенспецифические факторы включают гуморальный и клеточный иммунные ответы. Первый основан на выработке антител, второй — на действии активированных тимусзависимых лимфоцитов (Т-лимфоцитов). Для иммунного ответа гуморального типа характерна выработ-

ка антител, которые одновременно являются эффекторами В-звена иммунной системы. Для оценки этого звена используются исследования, которые характеризуют его функциональную активность и включают в себя определение концентраций иммуноглобулинов, уровня антител после профилактической иммунизации, выявление ЦИК. Клеточный тип ответа характеризуется выработкой большого количества антигенспецифических активированных В- и Т-лимфоцитов. Оптимальный иммунный ответ реализуется только при взаимодействии гуморального и клеточного звеньев иммунитета.

### 1.3.1. Гуморальный иммунитет

Имуноглобулины представляют собой характерный продукт секретиции В-клеток на конечной стадии их дифференцировки, т. е. плазматических клеток. Концентрация иммуноглобулинов в сыворотке является результатом установившегося равновесия между их синтезом и распадом. Дефекты, связанные с нарушением метаболизма иммуноглобулинов, наблюдаются при многих заболеваниях. Уменьшение содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови может происходить по трем причинам:

- 1) нарушение синтеза одного, нескольких или всех классов иммуноглобулинов;
- 2) увеличение деструкции иммуноглобулинов;
- 3) значительные потери иммуноглобулинов (например, при нефротическом синдроме).

Общим следствием этих процессов является дефицит иммуноглобулинов, а тем самым и антител. Если имеет место 1-й тип, нарушаются реакции иммунного ответа клеточного типа, опосредованные Т-лимфоцитами. Увеличение количества иммуноглобулинов может быть обусловлено усилением их синтеза или уменьшением интенсивности их распада. Повышенная выработка иммуноглобулинов является причиной гипергаммаглобулинемии.

#### 1.3.1.1. IgA в сыворотке крови

Имуноглобулины класса А включают в себя два вида специфических белков: сывороточный и секреторный. IgA в сыворотке крови содержится в форме мономера (на 90 % IgA<sub>1</sub>), входит в фракцию β-глобулинов и составляет до 15 % иммуноглобулинов сыворотки

крови. Секреторный IgA содержится в секретах (молоко, слюна, слезная жидкость, секреты кишечного и респираторного тракта) и существует только в форме димера (IgA<sub>1</sub> и IgA<sub>2</sub>). Антитела класса IgA синтезируются в основном лимфоцитами слизистых оболочек в ответ на местное воздействие антигена, осуществляют защиту слизистых оболочек от патогенных микроорганизмов, потенциальных аллергенов и аутоантигенов. Связываясь с микроорганизмами, IgA-антитела тормозят их прилипание к поверхности клеток эпителия и препятствуют проникновению их во внутреннюю среду организма, предупреждая тем самым развитие хронических местных воспалительных процессов. Локальный синтез IgA обуславливает местный иммунитет. Проникая во внутреннюю среду организма, IgA инактивирует бактерии и вирусы, активирует комплемент по альтернативному пути. Время полужизни IgA — 6–7 сут.

У человека сывороточный IgA составляет менее 50% всего пула IgA. Референтные величины содержания IgA в сыворотке представлены в табл. 1.1 [Тиц Н., 1997].

Таблица 1.1

## Референтные величины содержания IgA в сыворотке крови

Возраст	Величина, г/л	Возраст	Величина, г/л
Дети 1–3 мес.	0,06–0,58	6–7 лет	0,65–2,40
4–6 мес.	0,10–0,96	10–11 лет	0,91–2,55
7–12 мес.	0,36–1,65	12–13 лет	1,08–3,25
2–3 года	0,45–1,35	Взрослые	0,90–4,50
4–5 лет	0,52–2,20		

Таблица 1.2

## Изменения концентрации IgA при различных заболеваниях

Увеличение концентрации	Снижение концентрации
Острые и хронические бактериальные, грибковые и паразитарные инфекции	Физиологическая гипогаммаглобулинемия у детей в возрасте 3–5 мес., врожденная гипогаммаглобулинемия или агаммаглобулинемия
Хронические заболевания печени	
Цирроз печени	Заболевания, приводящие к истощению иммунной системы: • новообразования иммунной системы; • состояние после удаления селезенки;
Ревматоидный артрит	
Системная красная волчанка (СКВ)	

Окончание табл. 1.2

Увеличение концентрации	Снижение концентрации
Хронический лимфолейкоз	<ul style="list-style-type: none"> <li>• кишечные и почечные синдромы потери белка;</li> <li>• лечение цитостатиками и иммунодепрессантами</li> </ul>
Эндотелиомы, остеосаркомы	
Моноклональная гаммапатия	Острая вирусная, хроническая бактериальная инфекции
Миеломная болезнь	
Болезнь Вальденстрема	
Кандидомикоз, муковисцидоз	
Болезни дыхательных путей	

Снижение уровня свидетельствует о недостаточности гуморального и местного иммунитета, нарушении синтеза или усилении катаболизма IgA, а также адсорбции его на иммунных комплексах [Лебедев К. А., Понякина И. Д., 1990]. Изменения концентрации IgA при различных заболеваниях представлены в табл. 1.2.

### 1.3.1.2. IgM в сыворотке крови

Иммуноглобулины класса М относятся к  $\gamma$ -глобулиновой фракции и составляют в ней около 5%. Они первыми вырабатываются в ответ на острую инфекцию, осуществляя антибактериальный иммунитет. К ним относятся изогемагглютинины, антибактериальные, гетерофильные антитела, ревматоидный фактор. IgM является полимером и состоит в норме из 5 субъединиц, число антигенсвязывающих центров равно 10, время полужизни — 5 сут. Референтные величины содержания IgM в сыворотке крови представлены в табл. 1.3 [Тиц Н., 1997].

Таблица 1.3

#### Референтные величины содержания IgM в сыворотке крови

Возраст	Величина, г/л	Возраст	Величина, г/л
Дети 1–3 мес.	0,12–0,87	10–11 лет	0,66–1,55
4–6 мес.	0,25–1,20	12–13 лет	0,70–1,50
2–3 года	0,46–1,90	Взрослые: мужчины женщины	0,50–3,20 0,60–3,70
4–5 лет	0,40–2,00		
6–7 лет	0,55–2,10		



Поскольку IgM-антитела появляются на первом этапе иммунного ответа и находятся в основном в сосудистом русле, они играют важную защитную роль при бактериемии на ранних стадиях инфекции. Многовалентность этих антител делает их особенно активными в реакциях агглютинации и лизиса. Снижение их уровня свидетельствует о недостаточности гуморального иммунитета, нарушении синтеза или усилении катаболизма IgM, а также адсорбции его на иммунных комплексах при воспалительных процессах (табл. 1.4).

Таблица 1.4

## Изменения концентрации IgM при различных заболеваниях

Увеличение концентрации	Снижение концентрации
Острые бактериальные, грибковые, паразитарные и вирусные инфекции	Физиологическая гипогаммаглобулинемия у детей в возрасте 3–5 мес.
Острые вирусные гепатиты	Врожденная гипогаммаглобулинемия или агаммаглобулинемия
Аутоиммунные заболевания	Заболевания, приводящие к истощению иммунной системы: <ul style="list-style-type: none"> <li>• порообразования иммунной системы</li> <li>• состояние после удаления селезенки</li> <li>• кишечные и почечные синдромы потери белка</li> </ul>
Цирроз печени	
Ревматоидный артрит	
СКВ	
Эндотелиомы, остеосаркомы	
Миеломная болезнь	Лечение цитостатиками и иммунодепрессантами, облучение ионизирующей радиацией
Макроглобулинемия Вальденстрема	Хроническая вирусная инфекция
Канцидоз, муковисцидоз	Недостаточность гуморального иммунитета
Болезни дыхательных путей	
Моноклональная гаммапатия	
Острый и хронический лимфолейкоз	

## 1.3.1.3. IgG в сыворотке крови

Имуноглобулины класса G — основной компонент  $\gamma$ -глобулиновой фракции сыворотки крови. Они составляют большую часть

(80 %) всех иммуноглобулинов человека, являются важнейшими эффекторами гуморального иммунитета. Разнообразные антитела против бактерий, их токсинов, вирусов и других антигенов относятся к IgG. Они содержатся не только в сосудистом русле, но и легко проникают в экстравазальное пространство, где осуществляют защитную функцию благодаря токсиннейтрализующей, вируснейтрализующей, опсонизирующей и бактерицидной активности. Антитела этого класса являются основным защитным фактором у ребенка первых недель жизни (проникают через плацентарный барьер в сыворотку плода). При грудном вскармливании антитела из молока через слизистую кишечника новорожденного проникают в его кровь. Время полужизни — 21–24 дня. Активируют комплемент по классическому пути. Референтные величины содержания IgG в сыворотке крови представлены в табл. 1.5 [Тиц Н., 1997].

Таблица 1.5

**Референтные величины содержания IgG в сыворотке крови**

Возраст	Величина, г/л	Возраст	Величина, г/л
Дети 1–3 мес.	2,7–7,8	6–7 лет	5,7–14,1
4–6 мес.	1,9–8,6	10–11 лет	7,3–13,5
7–12 мес.	3,5–11,8	12–13 лет	7,7–15,1
2–3 года	5,2–13,6	Взрослые	8,0–17,0
4–5 лет	5,4–14,2		

Снижение уровня свидетельствует о недостаточности гуморального иммунитета. Изменения концентрации IgG при различных заболеваниях отражены в табл. 1.6.

Таблица 1.6

**Изменения концентрации IgG при различных заболеваниях**

Увеличение концентрации	Снижение концентрации
Острые и хронические бактериальные, грибковые и паразитарные инфекции	Физиологическая гипогаммаглобулинемия у детей в возрасте 3–5 мес., врожденная гипогаммаглобулинемия или агаммаглобулинемия
Острые и хронические заболевания печени	
Цирроз печени, вирусный гепатит	Гемоглобинопатии

Окончание табл. 1.6

Увеличение концентрации	Снижение концентрации
Аутоиммунные заболевания	Заболевания, приводящие к истощению иммунной системы: • новообразования иммунной системы; • состояние после удаления селезенки; • кишечные и почечные синдромы потери белка
Ревматоидный артрит	
Коллагенозы, ревматизм	
СКВ	
Саркоидоз, муковисцидоз	
Болезнь Вальденстрема	Лечение цитостатиками и иммунодепрессантами, облучение ионизирующей радиацией
Миеломная болезнь	
Моноклональная гаммапатия	Хроническая вирусная инфекция
Инфекционный мононуклеоз	
Хронический лимфолейкоз	
Реконвалесценция первичной бактериальной инфекции	
Острый период повторной инфекции, СПИД	

Комплексное определение содержания иммуноглобулинов классов IgA, IgM, IgG играет важную роль в проведении дифференциальной диагностики между различными заболеваниями печени, почек, инфекционными заболеваниями, системными ревматическими заболеваниями (табл. 1.7–1.10).

Таблица 1.7

#### Изменения концентрации иммуноглобулинов при заболеваниях печени

Заболевание	IgG	IgA	IgM
Острый инфекционный гепатит	+	H/+	H/++
Хронический персистирующий гепатит	H/+	H	H/+
Хронический агрессивный гепатит	++	+	H/++
Постгепатитный криптогенный цирроз	++	+	+
Первичный билиарный цирроз	H/+	H	+ / ++
Алкогольный цирроз	H/+	++	H/+

*Примечание:* H — нормальная концентрация; «+» — повышенная концентрация; «+++» — сильно повышенная концентрация; «-» — пониженная концентрация.

Таблица 1.8

**Изменения концентрации иммуноглобулинов  
при заболеваниях почек**

Заболевание	IgG	IgA	IgM
Острый пиелонефрит	H*	H	+ / ++
Хронический пиелонефрит	+ / ++	H	+ / ++
Нефротический синдром	-	-	H / -

\* См. Примечание к табл. 1.7.

Таблица 1.9

**Изменения концентрации иммуноглобулинов при инфекционных  
заболеваниях**

Заболевание	IgG	IgA	IgM
Острая инфекция	H*	H	+ / ++
Хроническая инфекция	+ / ++	H / +	H / +

\* См. Примечание к табл. 1.7.

Таблица 1.10

**Изменения концентрации иммуноглобулинов  
при системных ревматических заболеваниях**

Заболевание	IgG	IgA	IgM
Ревматоидный артрит	H / +++*	H / ++	H / +
СКВ	+	H	H / +
Склеродермия	H	H	H
Смешанные системные заболевания	H / +	H / +	H

\* См. Примечание к табл. 1.7.

#### 1.3.1.4. Общий IgE в сыворотке крови

Время полужизни IgE — 3 дня в сыворотке крови и 14 дней на мембранах тучных клеток и базофилов. С иммуноглобулинами класса E (реагинами) тесно связан механизм атопических аллергических реакций. Они обладают способностью к быстрой фиксации на клетках кожи, слизистых оболочек, тучных клетках и базофилах, поэтому в свободном виде IgE присутствует в плазме крови в ничтожных количествах. При повторном контакте с антигеном (ал-

лергеном) взаимодействие реактивных антител и антигена происходит на поверхности базофилов и тучных клеток, что приводит к дегрануляции, высвобождению вазоактивных факторов (гистамина, серотонина, гепарина и др.) и развитию клинических проявлений анафилаксии. Иммуноглобулин Е ответственен за аллергию немедленного типа, которая является наиболее распространенным типом аллергических реакций. Помимо участия в аллергических реакциях I типа, IgE также принимает участие в защитном противогельминтном иммунитете, что обусловлено существованием перекрестного связывания между IgE и антигеном гельминтов. Референтные величины содержания общего IgE в сыворотке приведены в табл. 1.11 [Тотолян А. А., 1998].

Таблица 1.11

**Референтные величины содержания общего IgE  
в сыворотке крови**

Возраст	Содержание IgE, кЕ/л	Возраст	Содержание IgE, кЕ/л
1–3 мес.	0–2	5 лет	10–50
3–6 мес.	3–10	15 лет	15–60
1 год	8–20	Взрослые	20–100

Определение содержания общего IgE в сыворотке крови применяется для диагностики атопических аллергических заболеваний (табл. 1.12).

Таблица 1.12

**Основные болезни и состояния, сопровождающиеся изменениями  
содержания общего IgE в сыворотке крови**

Болезни и состояния	Возможные причины
<b>Повышение содержания IgE</b>	
Аллергические болезни, обусловленные IgE-антителами	Аллергены: <ul style="list-style-type: none"> <li>• пыльцевые;</li> <li>• пылевые;</li> <li>• пищевые;</li> <li>• лекарственные;</li> <li>• химические вещества;</li> <li>• металлы;</li> <li>• чужеродный белок</li> </ul>
Атопические болезни: <ul style="list-style-type: none"> <li>• аллергический ринит;</li> <li>• атопическая бронхиальная астма;</li> <li>• атопический дерматит;</li> <li>• аллергическая гастроэнтеропатия</li> </ul>	
Анафилактические болезни: <ul style="list-style-type: none"> <li>• системная анафилаксия;</li> <li>• крапивница — ангионевротический отек</li> </ul>	

Окончание табл. 1.12

Болезни и состояния	Возможные причины
Аллергический бронхопульмональный аспергиллез	Неизвестны
Гельминтозы	IgE-антитела
Пипер-IgE-синдром (синдром Жоба)	Дефект Т-супрессоров
Селективный IgA-дефицит	Дефект Т-супрессоров
Синдром Вискотта—Олдрича	Неизвестны
Тимусная аплазия (синдром Ди Джорджи)	Неизвестны
IgE-миелома	Неоплазия В-клеток
Реакция «трансплантат против хозяина»	Дефект Т-супрессоров

Определение уровня IgE имеет важное прогностическое значение. Уровень IgE выше 95 % верхнего возрастного предела нормы выявляется у 75 % детей, родители которых имеют аллергические заболевания. Среди здоровых детей с уровнем IgE выше 1S для данного возраста частота развития аллергических заболеваний в течение последующих 18 мес. в 10 раз выше, чем у детей с нормальным уровнем IgE [Bernard J. H. M. D., 1996].

Повышенный уровень IgE чаще выявляется у детей с аллергией и гиперчувствительностью к большому количеству аллергенов, чем у детей с гиперчувствительностью к малому количеству аллергенов и чем у детей, у которых органы-мишени не вовлечены в аллергический процесс. Частота выявления повышенного уровня IgE выше у больных детей с гиперчувствительностью к пищевым и пыльцевым аллергенам, чем у детей с гиперчувствительностью к домашней пыли и плесени.

У взрослых определение уровня IgE имеет меньшее диагностическое значение, чем у детей. Повышенный уровень IgE выявляется только у 50 % больных, имеющих атопическую бронхиальную астму. Наиболее высокие значения IgE в крови отмечаются при наличии гиперчувствительности к большому числу аллергенов в комбинации с астмой, наследственным дерматитом и ринитом. При гиперчувствительности к одному аллергену уровень IgE может быть в пределах нормы [Паттерсон Р. и др., 2000].

Аллергический бронхопульмональный аспергиллез сопровождается значительным повышением уровня IgE в крови. Его концен-

трация повышена почти у каждого больного с аллергическим аспергиллезом в период острой легочной инфильтрации. Нормальный уровень IgE у больных с активным заболеванием легких позволяет исключить диагноз аспергиллеза.

Определение IgE имеет важное значение для диагностики редкого заболевания — гипер-IgE-синдрома. Этот синдром характеризуется повышением IgE в крови до 2000–50 000 кЕ/л, эозинофилией, резко выраженной крапивницей и гиперемией на вдыхаемые аллергены, пыльцу, пищу, бактериальные и грибковые аллергены. Астма не является характерной для данного синдрома [Bernard J. H. M. D., 1996].

В табл. 1.13 приведены примерные диапазоны содержания общего IgE в сыворотке крови у взрослых при некоторых патологических состояниях.

Таблица 1.13

**Содержание общего IgE в сыворотке крови при некоторых патологических состояниях [Тотолян А. А., 1998]**

Патологическое состояние	Содержание IgE, кЕ/л
Аллергический ринит	120–1000
Атопическая бронхиальная астма	120–1200
Атопический дерматит	80–14 000
Аллергический бронхопульмональный аспергиллез:	
• ремиссия;	80–1000
• обострение	1000–8000
IgE миелома	15 000 и выше

При оценке результатов определения общего IgE следует иметь в виду, что примерно у 30 % больных с атопическими заболеваниями уровень этого иммуноглобулина может быть в пределах нормы.

Сниженное содержание IgE выявляют при атаксии-телеангиэктазии вследствие дефекта T-клеток.

При постановке диагноза аллергии недостаточна констатация повышения общего IgE в крови. Для поиска причинного аллергена необходимо выявлять специфические антитела класса IgE против него. В настоящее время лаборатории в состоянии определять аллергенспецифический IgE в сыворотке крови к более чем 600 ал-

аллергенам, наиболее часто вызывающим аллергические реакции у человека.

Обнаружение аллергенспецифического IgE к какому-либо аллергену или антигену еще не доказывает, что именно этот аллерген ответствен за клиническую симптоматику. Окончательное заключение и интерпретация результатов исследований должны быть сделаны только после сопоставления с клинической картиной и данными развернутого аллергологического анамнеза. Отсутствие специфического IgE в сыворотке крови не исключает возможности участия в патогенезе заболевания IgE-зависимого механизма, так как местный синтез IgE и сенсibilизация тучных клеток могут происходить и в отсутствие специфического IgE в кровотоке (например, при аллергическом рините). Антитела других классов, специфичные для данного аллергена, особенно класса IgG, могут быть причиной ложноотрицательных результатов. Исключительно высокие концентрации общего IgE (например, у отдельных больных с атопическим дерматитом) могут быть обусловлены неспецифическим связыванием с различными антигенами [Тотолян А. А., 1998].

Кроме IgE в аллергических реакциях немедленного типа могут принимать участие антитела субкласса IgG<sub>4</sub>, поэтому для диагностики необходимо определять специфические антитела классов IgE и IgG<sub>4</sub>.

#### 1.3.1.5. Циркулирующие иммунные комплексы в сыворотке крови

**Содержание ЦИК в сыворотке крови в норме составляет 30–90 МЕ/мл.**

ЦИК — комплексы, состоящие из антигена, антител и связанных с ними компонентов комплемента C3, C4, C1q. В норме иммунные комплексы, образовавшиеся в кровотоке, фагоцитируются и разрушаются как фагоцитами, так и печенью. Однако в случае увеличения их размера (при избытке антигена и присутствии в их структуре IgM, C1q-компонента комплемента) комплексы могут откладываться в периваскулярном пространстве и корковом слое почек, вызывая активацию комплемента и воспалительные процессы. Патологические реакции на иммунные комплексы могут быть обусловлены превышением скорости их образования над скоростью элиминации, дефицитом одного или нескольких компонен-



тов комплемента или функциональными дефектами фагоцитарной системы. Определение уровня иммунных комплексов в сыворотке крови имеет важное значение в диагностике острых воспалительных процессов и аллергических реакций III типа, при которых уровень ЦИК повышается, а также в оценке эффективности проводимого лечения.

При различных аутоиммунных заболеваниях реагирующие с тканями аутоантитела оказывают цитотоксическое действие, но несравненно больший повреждающий эффект оказывают иммунные комплексы. Вследствие этого заболевания, в патогенезе которых аутоиммунные процессы играют важную роль, нередко называют болезнями иммунных комплексов. Описано более сотни болезней, первопричиной которых является депонирование в различных органах, тканях или системах ЦИК с активацией комплемента и лизосом клеток, с последующим развитием воспалительной реакции или деструкции тканей под влиянием Т-киллеров и макрофагов.

Болезни иммунных комплексов проявляются:

- наличием в крови больных гипергаммаглобулинемии, органоспецифических аутоантител и ЦИК;
- лимфоплазмноклеточной инфильтрацией пораженного органа;
- активацией пролиферативных процессов в лимфоузлах.

**Повышение уровня ЦИК в крови характерно для:**

- острых бактериальных, грибковых, паразитарных и вирусных инфекций;
- аутоиммунных заболеваний, коллагенозов, ревматизма, гломерулонефрита, аллергических альвеолитов, васкулитов, феномена Артюса;
- иммунокомплексных заболеваний, сывороточной болезни;
- аллергических реакций III типа.

### 1.3.1.6. Иммуноэлектрофорез белков сыворотки крови

**Парапротеины в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Иммуноглобулинопатии, или гаммапатии, объединяют большую группу патологических состояний, характеризующихся поликлональной или моноклональной гипергаммаглобулинемией. Иммуноглобулины состоят из двух тяжелых цепей — H-цепь (молекулярная масса 50 000 Да) и двух легких цепей — L-цепь (молекулярная масса

25 000 Да). Цепи соединены дисульфидными мостиками и состоят из структур, которые называются доменами (H-цепь — из 4 доменов, L-цепь — из 2). При действии протеолитических ферментов Ig разделяются на фрагменты: Fc-фрагмент и Fab-фрагмент. Fab-фрагмент имеет активный антигенсвязывающий центр в виде полости различной конфигурации в зависимости от конфигурации антигена. Fc-фрагмент отвечает за деградацию Ig, рецепторы к нему имеются на всех клетках; к этому фрагменту присоединяются и при этом активируются компоненты комплемента. Благодаря Fc-фрагменту IgG способен проникать через плаценту. Тяжелые цепи иммуноглобулинов человека имеют пять структурных вариантов, которые обозначаются буквами греческого алфавита:  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ . Им соответствуют 5 классов иммуноглобулинов: G, A, M, D, E. Легкие цепи представлены двумя структурно различными вариантами:  $\kappa$  (каппа) и  $\lambda$  (лямбда), которым соответствуют два типа иммуноглобулинов каждого класса. Тяжелые и легкие цепи представляют собой компоненты иммуноглобулинов (являются фрагментами иммуноглобулинов). В каждой молекуле иммуноглобулина обе тяжелые и обе легкие цепи идентичны. У всех людей в норме имеются иммуноглобулины всех классов и обоих типов, но их относительное содержание неодинаково. Соотношение молекул  $\kappa$  и  $\lambda$  в пределах разных классов иммуноглобулинов тоже различно. Так, среди молекул IgG класса тип  $\kappa$  составляет 60–70%, а среди молекул IgD — 10–20% [Андреева Н. Е., Чернохвостова Е. В., 1985]. Неодинаково соотношение  $\kappa/\lambda$  и в разных подклассах IgG. Выявление нарушения соотношений Ig или их фрагментов играет важнейшую роль в диагностике моноклональных иммуноглобулинопатий.

Моноклональная иммуноглобулинопатия (парапротеинемия) представляет собой синдром, выражающийся в накоплении в сыворотке крови и/или моче больных однородных по всем физико-химическим и биологическим параметрам иммуноглобулинов или их фрагментов. Моноклональные иммуноглобулины (парапротеины, M-протеины) являются продуктом секреции одного клона B-лимфоцитов или плазматических клеток, поэтому представляют собой пул структурно гомогенных молекул, имеющих тяжелые цепи одного класса (субкласса), легкие цепи одного типа и переменные области одинакового строения. Моноклональные иммуноглобулинопатии принято разделять на доброкачественные и злокачествен-

ные. При доброкачественных формах моноклональных гаммапатий пролиферация плазматических клеток контролируется (возможно, иммунной системой) таким образом, что клинические симптомы отсутствуют. При злокачественных формах происходит бесконтрольная пролиферация лимфоидных или плазматических клеток, которая и обуславливает клиническую картину заболевания. Классификация моноклональных иммуноглобулинопатий приведена в табл. 1.14 [Волкова М. А., 2001].

Таблица 1.14

## Классификация моноклональных иммуноглобулинопатий

Категория моноклональных гаммапатий	Характер патологии	Концентрация патологического Ig в сыворотке, г/л
В-клеточные злокачественные	Множественная миелома, макроглобулинемия Вальденстрема. Плазмоцитома (солитарная — костная и экстрамедуллярная), лимфома, хронический лимфолейкоз, БТЦ	Более 25 Значительно ниже 25
В-клеточные доброкачественные	Моноклональные гаммапатии неясного генеза	Ниже 25
Иммунодефицитные состояния с дисбалансом Т- и В-звеньев иммунной системы	Первичные (синдромы Вискотта—Олдрича, Ди Джорджи, Незелефа, тяжелого комбинированного иммунодефицита). Вторичные (возрастные, вызванные применением иммунодепрессантов, сопутствующие онкологическим заболеваниям нелимфоидной природы, например раку толстой кишки, молочной железы, предстательной железы и др.). Перестройка иммунной системы после пересадки костного мозга. Антигенная стимуляция в раннем онтогенезе (внутриутробная инфекция)	Ниже 2,5  То же » »
Гомогенный иммунный ответ	Бактериальные инфекции Аутоиммунные заболевания, такие как криоглобулинемия, СКВ, ревматоидный артрит и др.	» »

Иммуноэлектрофорез белков сыворотки крови позволяет выявлять моноклональные (патологические) иммуноглобулины А, М, G,

H- и L-цепь, парапротеины. При обычном электрофорезе нормальные иммуноглобулины, разнородные по свойствам, располагаются в зоне  $\gamma$ , образуя плато или широкую полосу. Моноклональные иммуноглобулины вследствие своей однородности мигрируют преимущественно в зону  $\gamma$ , изредка в зону  $\beta$  и даже в область  $\alpha$ , где образуют высокий пик или четко отграниченную полосу (M-градиент).

*Множественная миелома* (болезнь Рустицкого—Калера) — самый частый парапротеинемический гемобластоз, встречается не реже, чем хронические миело- и лимфолейкозы, лимфогранулематоз и острые лейкозы. Класс и тип секретируемых миеломой патологических иммуноглобулинов (PIg) определяет иммунохимический вариант заболевания. Частота классов и типов PIg при миеломе в целом коррелирует с соотношением классов и типов нормальных иммуноглобулинов у здоровых людей (табл. 1.15).

Таблица 1.15

Основные иммунохимические варианты множественной миеломы и их характеристика [Андреева Н. Е., Чернохостова Е. В., 1985]

Вариант	PIg сыворотки крови	PIg мочи (тип легких цепей)	Частота, %
G-миелома	G $\kappa$	$\kappa$	55—65
	G $\lambda$	$\lambda$	
	G $\kappa$ или G $\lambda$	—	
A-миелома	A $\kappa$	$\kappa$	20—25
	A $\lambda$	$\lambda$	
	A $\kappa$ или A $\lambda$	—	
D-миелома	D $\kappa$	$\kappa$	2—5
	D $\lambda$	$\lambda$	
	D $\kappa$ или D $\lambda$	—	
E-миелома	E $\kappa$	$\kappa$	2—5
	E $\lambda$	$\lambda$	
	E $\kappa$ или E $\lambda$	—	
Болезнь легких цепей (миелома Бенс—Джонса)	Нет	$\kappa$ $\lambda$	12—20
	Нет	—	
Несекретирующая миелома	Нет	—	1—4

Окончание табл. 1.15

Вариант	PIg сыворотки крови	PIg мочи (тип легких цепей)	Частота, %
Дистональные миеломы	Разные соотношения двух PIg и более		
M-миелома	Мк	κ	0,5
	Мλ	λ	
	Мκ или Мλ	—	

Наряду с повышением содержания PIg в сыворотке больных множественной миеломой определяются нормальные иммуноглобулины в сниженной концентрации. Содержание общего белка резко повышено — до 100 г/л. PIg можно обнаружить на электрофореграмме белков сыворотки крови по наличию дополнительной узкой насыщенной и резко ограниченной фракции (M-компонента). Активность процесса при G-миеломе оценивается по числу плазмочитов в стерильном пунктате, уровням креатинина и кальция в сыворотке крови (повышение уровней креатинина и кальция свидетельствует о прогрессировании заболевания). Концентрация M-протеина (в моче он называется белком Бенс—Джонса) служит критерием для оценки прогрессирования заболевания при A-миеломе. Концентрация парпротеинов в сыворотке крови и моче варьирует в течение болезни под воздействием терапии.

Для постановки диагноза множественной миеломы необходимо наличие следующих критериев [DeVita V. T. et al., 1989].

**Большие критерии:**

1. Плазмочитома по результатам биопсии.
2. Плазмочитоз в костном мозге (более 30 % клеток).
3. Пики моноклональных (патологических) Ig при электрофорезе сывороточного белка: более 35 г/л для пика IgG или более 20 г/л для пика IgA. Экскреция κ- и λ-цепей в количестве  $\geq 1$  г/сут, выявленная с помощью электрофореза мочи у больного без амилоидоза.

**Малые критерии:**

1. Плазмочитоз в костном мозге (10–30 % клеток).
2. Пик PIg в сыворотке крови в количестве меньшем, чем указано выше.

3. Литические поражения костей.
4. Уровень нормального IgM ниже 0,5 г/л, IgA менее 1,0 г/л или IgG ниже 0,6 г/л.

Диагноз множественной миеломы требует как минимум 1 большого и 1 малого критерия или 3 малых с обязательным присутствием критериев, приведенных в пунктах 1 и 2.

Для определения стадии миеломы используют стандартизирующую систему Дьюри—Сальмона, которая является индикатором объема опухолевого поражения (табл. 1.16) [Munker R. et al., 2000].

Таблица 1.16

## Стадии множественной миеломы

Стадия	Критерии	Масса опухоли, число клеток $\times 10^{12}/\text{м}^3$
I	Малая миелома при наличии следующих критериев: <ul style="list-style-type: none"> <li>• концентрация гемоглобина в крови выше 100 г/л;</li> <li>• уровень общего кальция в сыворотке крови в норме (<math>&lt; 3</math> ммоль/л);</li> <li>• отсутствие изменений в костях при радиграфии или солитарная плазмоцитома кости;</li> <li>• низкая концентрация парапротеинов в сыворотке крови:               <ul style="list-style-type: none"> <li>— IgG ниже 50 г/л;</li> <li>— IgA ниже 30 г/л;</li> <li>— L-цепей (белок Бенс—Джонса) в моче менее 4 г/24 ч</li> </ul> </li> </ul>	Менее 0,6
II	Промежуточная миелома (критерии находятся между I и III стадиями)	0,6—1,2
III	Большая миелома при наличии 1 и более из следующих критериев: <ul style="list-style-type: none"> <li>• концентрация гемоглобина в крови ниже 85 г/л;</li> <li>• уровень общего кальция в сыворотке крови выше 12 мг% (3,0 ммоль/л);</li> <li>• обширное поражение скелета или крупные переломы;</li> <li>• высокая концентрация парапротеинов в сыворотке крови:               <ul style="list-style-type: none"> <li>— IgG более 70 г/л;</li> <li>— IgA более 50 г/л;</li> <li>— L-цепей (белок Бенс—Джонса) в моче более 12 г/24 ч</li> </ul> </li> </ul>	Более 1,2

Все три группы миелом делятся на подклассы в зависимости от состояния функции почек: А — уровень креатинина в сыворотке крови ниже 2,0 мг% (176,8 мкмоль/л), В — более 2,0 мг%. При миеломной болезни высокая концентрация бета-2-микроглобулина ( $\beta_2$ -МГ) в сыворотке крови (более 6000 нг/мл) предполагает неблагоприятный прогноз, так же как и высокая активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) — выше 300 МЕ/л (постановка реакции при температуре 30 °С), анемия, почечная недостаточность, гиперкальциемия, гипоальбуминемия и объем опухоли.

*Болезни легких цепей* (миелома Бенс—Джонса) составляют около 20 % случаев миелом. При миеломе Бенс—Джонса образуются исключительно свободные легкие цепи, которые выявляются в моче (белок Бенс—Джонса), при отсутствии сывороточного P<sub>1</sub>g (М-градиента).

К редким иммунохимическим вариантам миеломной болезни относятся несекретируемая миелома, при которой парапротеины можно обнаружить только в цитоплазме миеломных клеток, а также диклоновые миеломы и редкая М-миелома.

Критерии эффективности лечения при множественной миеломе приведены в табл. 1.17 [Myeloma Task Force, 1973].

Таблица 1.17

## Критерии эффективности лечения при множественной миеломе

Степень ответа	Снижение уровня P <sub>1</sub> g
Полный ответ	≥ 75 % в сыворотке крови и/или > 90 % в моче
Частичный ответ	≥ 70 %, но < 75 %
Объективный ответ или стабилизация	≥ 25 %, но < 50 %
Без эффекта	< 25 %
Дополнительные клинические критерии ответа: гемоглобин > 90 г/л, альбумин > 30 г/л, нормальный уровень кальция, отсутствие новых литических очагов в костях. Достигнутый уровень ответа должен сохраняться не менее 2 мес. и должен быть подтвержден дважды	

*Макроглобулинемия Вальденстрема* — хронический сублейкемический лейкоз В-клеточной природы, морфологически представленный лимфоцитами, плазмочитами и всеми переходными

формами клеток, синтезирующими P<sub>1</sub>IgM (макроглобулин). Опухоль обладает низкой степенью злокачественности. В костном мозге обнаруживается пролиферация мелких базофильных лимфоцитов (плазмацитоидных лимфоцитов), повышено количество тучных клеток. На электрофореграмме белков сыворотки крови выявляется M-градиент в зоне β- или γ-глобулинов, реже — парапротенин, который не мигрирует в электрическом поле, оставаясь на месте. Иммунохимически он представляет P<sub>1</sub>IgM с одним типом легких цепей. Как и нормальный IgM, сывороточный P<sub>1</sub>IgM образует комплексы с нормальными иммуноглобулинами других изотипов и другими белками плазмы. В связи с этим установить принадлежность P<sub>1</sub>IgM к одному изотипу по L-цепям при проведении иммунотипирования нередко очень сложно. Уровень P<sub>1</sub>IgM в сыворотке крови при макроглобулинемии Вальденстрема колеблется от 30 до 79 г/л. У 55–80 % больных обнаруживается белок Бенс—Джонса в моче. Уровень нормальных иммуноглобулинов в крови снижается. Почечная недостаточность развивается редко.

При лимфомах наиболее часто встречаются IgM-секретирующие лимфомы, второе место занимают парапротейнемические лимфомы, секретирующие IgG, лимфомы с IgA-парапротейнемией встречаются крайне редко [Андреева Н. Е., Чернохвостова Е. В., 1985]. Снижение уровня нормальных Ig при лимфомах регистрируется у большинства больных, но степень его обычно небольшая.

*Болезни тяжелых цепей (БТЦ)* — В-клеточные лимфатические опухоли, сопровождающиеся продукцией моноклональных фрагментов тяжелых цепей Ig. БТЦ встречаются очень редко. Существует 4 разновидности БТЦ: α, γ, μ, δ. БТЦ-γ встречается чаще у мужчин моложе 40 лет, характеризуется увеличением печени, селезенки, лимфоузлов, отеком мягкого неба и языка, эритемой, лихорадкой. Деструкция костей, как правило, отсутствует. Патологический глобулин в сыворотке невысокий, СОЭ нормальная. В костном мозге — лимфоидные клетки и плазматические клетки разной степени зрелости. Заболевание протекает быстро и заканчивается смертью в течение нескольких месяцев. БТЦ-μ встречается редко, в основном у пожилых людей, проявляется, как правило, гепатоспленомегалией. Субстрат опухоли — лимфоидные элементы разной степени зрелости. БТЦ-δ описана только в одном случае. Протекает как миеломная болезнь. БТЦ-α — наиболее частая форма, развиваю-



шаяся главным образом у детей и лиц до 30 лет, 85 % случаев зарегистрировано в районах Средиземноморья. За счет опухолевой инфильтрации лимфоидными и плазматическими клетками слизистой оболочки тонкого кишечника и мезентериальных лимфоузлов возникает атрофия ворсинок, что приводит к нарушению всасывания и хронической диарее — до 10 раз в сутки, стеаторее, гипокальциемии, болям в животе, лихорадке, истощению. Продолжительность жизни — до 4 лет. Иммуноэлектрофорез сыворотки крови и мочи является единственным методом диагностики заболевания, так как классический M-градиент на электрофореграмме белков сыворотки крови часто отсутствует.

*Реактивные парапротеинемии* возникают при наличии генетической предрасположенности в ответ на бактериальные и вирусные инфекции (гепатит, цитомегаловирусная инфекция) или паразитарные инвазии (лейшманиоз, токсоплазмоз, шистосомоз). Эта форма моноклональной иммуноглобулинопатии зарегистрирована при трансплантации органов, лечении цитостатиками, при наследственных или приобретенных иммунодефицитах. Преходящие парапротеинемии характеризуются низкими уровнями Ig в сыворотке крови, отсутствием или следовыми количествами белка Бенс—Джонса в моче. Повышение их уровня в крови носит преходящий характер (исчезают в течение нескольких дней, реже — месяцев).

*Ассоциированная парапротеинемия* сопровождает ряд заболеваний, в патогенезе которых играют роль иммунные механизмы: аутоиммунные заболевания, опухоли, хронические инфекции. К таким заболеваниям относятся AL-амилоидоз и криоглобулинемии (см. ниже).

*AL-амилоидоз* — заболевание, при котором в тканях откладываются парапротеины, представляющие собой моноклональные легкие цепи иммуноглобулинов (ранее это заболевание называлось первичным амилоидозом). Отложение парапротеинов в тканях сопровождается необратимым повреждением внутренних органов, которое приводит к сокращению продолжительности жизни. AL-амилоидоз возникает в отсутствие других заболеваний. Диагноз основан на клинической картине и данных лабораторных исследований. При электрофорезе (у 40 % больных) и иммуноэлектрофорезе (у 68 % больных) белков сыворотки крови определяется фракция моноклональных белков. При электрофорезе белков сыворотки крови

и мочи эта фракция обнаруживается у 89 % больных. Примерно у 70 % больных она состоит из моноклональных иммуноглобулинов, у остальных — из моноклональных легких цепей. При AL-амилоидозе, в отличие от миеломной болезни, гиперпродукция κ-цепей встречается в 2 раза реже, чем λ-цепей. Для подтверждения диагноза проводят биопсию пораженного органа. Препараты окрашивают конго красным. При исследовании с помощью поляризационного микроскопа обнаруживают двоякопреломляющиеся нити зеленого цвета. Поскольку в 20 % случаев AL-амилоидоз сопутствует миеломной болезни, необходимо исследовать большие и малые критерии множественной миеломы. AL-амилоидоз у 82 % больных сопровождается протеинурией, у 5–60 % — повышением уровня креатинина в сыворотке крови, у 50 % — снижением уровня IgG. Анемия встречается лишь при AL-амилоидозе, сопутствующем миеломной болезни [Лор-младший Г. и др., 2000].

*Идиопатические парапротеинемии* возникают у лиц пожилого возраста и могут представлять собой предмиеломные состояния. Такие пациенты требуют проведения тщательного обследования для выявления начальной стадии заболевания и длительного динамического наблюдения.

Признаками доброкачественной парапротеинемии являются: отсутствие белка Бенс—Джонса, изменений уровней Ig, количество плазматических клеток в пунктате костного мозга менее 15 %, лимфоцитов — менее 20 %, концентрация сывороточного парапротеина ниже 30 г/л.

Следует заметить, что до недавнего времени иммуноэлектрофорез широко использовался для выявления и идентификации парапротеинов. Однако в настоящее время на смену ему пришел метод иммунофиксации, который значительно превосходит иммуноэлектрофорез по чувствительности и наглядности получаемых результатов. При выполнении метода иммунофиксации на одной и той же пластине с заранее нанесенным на нее агарозным гелем проводят несколько электрофоретических разделений сыворотки крови или мочи, после чего один из треков окрашивают сразу после окончания фореаза (контрольная фореграмма), а на поверхность остальных наносят антисыворотки определенной специфичности. В месте расположения белка, прореагировавшего с родственной ему антисывороткой, образуется преципитат. Отмыв несвязавшиеся бел-

ки, пластины окрашивают. Зону миграции белка уточняют, соотнося место положения преципитата, образованного этим белком, с контрольной форсграммой.

### 1.3.1.7. Иммуноэлектрофорез белков мочи

#### Парапротеины в моче в норме отсутствуют.

При иммуноглобулинопатии увеличение концентрации сывороточных протеинов, в особенности макроглобулинов, или иммуноглобулинов, объединенных в иммунные комплексы с факторами свертывания крови или иными антигенами, обуславливает повышение вязкости крови, что в свою очередь приводит к нарушениям кровообращения в мелких сосудах и повреждению их стенок иммунными комплексами. В этих случаях в первую очередь страдают почки, что проявляется протеинурией. Характеристика протеинурий необходима для уточнения природы иммуноглобулинопатий. Одна из причин протеинурии — появление патологических белков в моче у больных миеломной болезнью. Повышенное содержание общего белка мочи отмечается почти у 90 % таких больных. Иммуноэлектрофорез белков мочи позволяет выявить патологические иммуноглобулины А, М, G, H-цепи, парапротеины, белок Бенс—Джонса. Около 15–20 % всех случаев миеломной болезни можно отнести к миеломе Бенс—Джонса, характеризующейся продуцированием исключительно моноклональных легких цепей. Последние также обнаруживаются в 50–60 % случаев IgG- и IgA-парапротеинемий и практически у всех больных D-миеломой.

При макроглобулинемии Вальденстрема белок Бенс—Джонса обнаруживается в 60–70 % случаев, но общее количество белка в моче не превышает 200 мг/сут. Идентификация белка Бенс—Джонса в моче имеет особое диагностическое и прогностическое значение. Этот белок, проникая в канальцы, повреждает их эпителий и инфильтрирует интерстиций, в результате чего происходит склерозирование стромы почки, что приводит к развитию почечной недостаточности, являющейся наиболее частой причиной летальности при миеломной болезни. При обнаружении белка Бенс—Джонса необходимо его типирование, поскольку нефротоксическое действие белка Бенс—Джонса типа  $\lambda$  значительно выше (у таких больных наблюдается более тяжелое поражение почек), чем белка типа  $\kappa$ .

Выделение белка Бенс—Джонса с мочой, как правило, говорит о наличии опухолевого процесса, так как белок Бенс—Джонса реактивным не бывает. Поэтому раннее его выявление в моче, даже в следовых количествах, — необходимое условие ранней диагностики множественной миеломы.

Следует помнить, что почти в 50 % случаев хронического лейкоза наблюдается выделение белка Бенс—Джонса с мочой.

### 1.3.1.8. Криоглобулины в сыворотке крови

**Содержание криоглобулинов в сыворотке крови в норме составляет до 0,08 г/л.**

Криоглобулины — иммуноглобулины или другие белки сыворотки крови, способные образовывать нерастворимые комплексы при температуре 4 °С и снова растворяться при нагревании до 37 °С. По сравнению с нормальными иммуноглобулинами криоглобулины имеют специфическую структуру аминокислот, их тяжелых цепей и, реже, легких цепей, а также содержат меньше углеводов, что объясняет потерю растворимости при низких температурах с образованием преципитатов. Криопатии включают группу состояний, для которых характерна повышенная чувствительность или измененная реакция организма на воздействие холода. В одних случаях криопатия может быть выраженным клиническим признаком, а в других — второстепенным симптомом.

Различают моноклональные формы криопатий, которые представлены однородными по структуре криоглобулинами, и смешанные, при которых выявляют иммуноглобулины разных классов. Моноклональные формы характерны для лимфопролиферативных заболеваний, смешанные — главным образом для состояний, не связанных с опухолевым процессом (заболевания соединительной ткани, хронический гломерулонефрит, хронические инфекции, болезни печени). При смешанных формах клинические проявления бывают чаще, чем при моноклональных.

В зависимости от клональных свойств преципитирующих иммуноглобулинов выделяют три типа криоглобулинов и, соответственно, три типа криоглобулинемии [Лор-младший Г. и др., 2000; Foerster J., 1999].

*При I типе* криоиммуноглобулины состоят из моноклональных иммуноглобулинов, не обладающих активностью в отношении

ревматоидного фактора. Этот тип криоглобулинемии чаще всего выявляют при миеломной болезни, макроглобулинемии Вальденстрема, неходжкинских лимфомах, волосатоклеточном лейкозе и других плазмноклеточных дискразиях (доброкачественных парапротеинемиях). Реже холодovou преципитацию обнаруживают у белков Бенс—Джонса и IgA. При макроглобулинемии Вальденстрема и неходжкинских лимфомах криоиммуноглобулины обладают характеристиками IgM с  $\kappa$ - или  $\lambda$ -легкими цепями. От 7 до 20 % макроглобулинов имеют свойства криоиммуноглобулинов. При выявлении криоиммуноглобулинов без соответствующих признаков плазмноклеточной дискразии эти случаи относят к эссенциальной моноклональной криоглобулинемии — состоянию, близкому к доброкачественной моноклональной парапротеинемии. В таких случаях криоиммуноглобулины состоят из IgG. У части больных с эссенциальной моноклональной криоглобулинемией в дальнейшем может развиваться злокачественная парапротеинемия, чаще всего миеломная болезнь, поэтому такие пациенты требуют постоянного динамического наблюдения.

*Криоиммуноглобулины II типа* представляют комплекс иммуноглобулинов, состоящих из моноклонального компонента с активностью ревматоидного фактора, обычно связанного с IgM (в большинстве случаев состоит из легких цепей), реже — с IgG и IgA и аптител, характерных для поликлональных IgG. Данный тип криоиммуноглобулинов наиболее часто выявляют у больных с аутоиммунными заболеваниями (СКВ, ревматоидным артритом, болезнью Бехтерева, Шегрена, Рейно, гломерулонефритом), реже — с некоторыми заболеваниями кожи (поздней кожной порфирией). У многих пациентов с криоглобулинемией II типа не удается обнаружить другой патологии. Такие случаи относят к эссенциальной смешанной криоглобулинемии. Вместе с тем в настоящее время установлено, что около 50 % пациентов с эссенциальной смешанной криоглобулинемией инфицированы вирусом гепатита С и у 36–54 % таких больных в сыворотке крови выявляют криоглобулины [Cacoub P. et al., 1994]. Уровень РНК вируса гепатита С (вирусная нагрузка) в крови в 100–1000 раз выше у пациентов при наличии криоиммуноглобулинов.

*Криоиммуноглобулины III типа* состоят из одного или нескольких типов поликлональных Ig и иногда из неиммуноглобулиновых субстанций (комплемент, полинуклеотиды, ДНК, вирусные анти-

гены и др.). Они обладают анти-IgG- и анти-IgM (ревматоидный фактор)-активностью.

Криоглобулины III типа ассоциированы с большим числом инфекций — вирусных (гепатиты В, С, инфекционный мононуклеоз, цитомегаловирусная инфекция и др.), бактериальных (инфекционный эндокардит, сифилис и др.), паразитарных (токсоплазмоз, эхинококкоз, малярия и др.), аутоиммунными заболеваниями (СКВ, ревматоидный артрит, синдром Шегрена, тиреоидит, синдром Бехчета и др.), болезнями печени (билиарный цирроз) и почек (пролиферативный нефрит). Встречаются случаи эссенциальной смешанной криоглобулинемии без выявления патологии органов.

В последние годы показано, что эссенциальная смешанная криоглобулинемия II и III типов чаще встречается у больных гепатитом С (у 37–84%), реже — в случаях гепатита В (15%) и при других поражениях печени (до 32%) [Малышко Е. Ю., 1999]. Распространенность криоглобулинемии коррелирует с продолжительностью заболевания, морфологическими изменениями в печени и наличием цирроза.

У больных с криоглобулинемией концентрация криоглобулинов почти всегда превышает 0,2 г/л и может достигать 5 г/л. При исследовании типа криоглобулинов необходимо помнить, что моноклональные криоглобулины можно выявить в течение 24 ч нахождения сыворотки крови в холодильнике (при температуре 4 °С), в то время как смешанные криоглобулины — только через несколько дней, поэтому минимальный инкубационный период должен быть не менее 72 ч [Вермель А. Е., 2000]. В дальнейшем проводят иммуноэлектрофорез сыворотки для определения типа криоглобулинов. Знание типа криоглобулинов позволяет врачу предвидеть соответствующие определенному типу криоглобулинемии клинические проявления.

Все типы криоглобулинемий сопровождаются поражением клубочков почек. Характер гломерулярного повреждения зависит от места отложений иммуноглобулинов и их типа. При I и III типах криоглобулинемии повреждения клубочков носят неспецифический и непостоянный характер. Однако криоглобулинемия II типа приводит к развитию типичного мембранозно-пролиферативного гломерулонефрита, который в большинстве случаев возникает у больных гепатитом С.

### 1.3.2. Клеточный иммунитет

Исследование клеточного иммунитета является необходимым для выявления первичного или вторичного иммунодефицита, а также для контроля за проведением иммуностимулирующей терапии. Клеточный иммунитет представлен различными популяциями Т- и В-лимфоцитов, соотношение которых играет важную роль для оценки состояния этого звена иммунитета.

Среди В-лимфоцитов имеются три группы клеток:

- 1) В-эффекторы, или плазматические клетки, вырабатывающие антитела (иммуноглобулины);
- 2) В-хелперы, или В-помощники, помогающие Т-лимфоцитам выполнять их функции;
- 3) В-супрессоры, замедляющие клеточные реакции, тормозящие синтез ДНК, выработку антител, функции Т-лимфоцитов, ответ лимфоцитов на воздействие митогенов.

На своей поверхности В-клетки несут молекулы иммуноглобулинов, которые функционируют как рецепторы для антигенов. Наряду с этим они имеют рецепторы к Fc-фрагментам иммуноглобулинов и к компонентам комплемента. В-система имеет непосредственное отношение к выработке иммуноглобулинов, ответственных за иммунные реакции организма. Сами по себе В-клетки не способны распознать чужеродные антигены без Т-клеток.

Т-лимфоциты несут на своей поверхности маркеры — антигены, которые объединены в CD. Они выступают в роли первичных стимуляторов В-лимфоцитов и моноцитов крови, тканей. Это достигается либо посредством выделения ими гуморальных факторов (интерлейкинов и лимфокинов), либо путем прямого контакта с В-клетками. Для оценки Т-звена клеточного иммунитета исследуют количество Т-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-киллеров, Т-супрессоров, а также оценивают функциональную активность Т-лимфоцитов и систему цитокинов.

#### 1.3.2.1. Общее количество В-лимфоцитов (CD20) в крови

Общее количество В-лимфоцитов CD20 в крови для взрослых в норме составляет 8—19 %, абсолютные значения —  $0,19 \pm 0,38 \times 10^9/\text{л}$ .

CD20 — клетки гуморального иммунитета, ответственные за синтез антител. Образуются в костном мозге из стволовых клеток, где

проходят первые этапы дифференцировки. Согласно современным представлениям, развитие В-лимфоцитов проходит стадийно — от стволовой клетки к ранним и поздним предшественникам и наконец к зрелой клетке. Ведут «оседлый образ жизни», в основном в периферических лимфоидных органах. В периферической крови их содержится лишь 15–20 %. Важное значение в оценке гуморального иммунитета имеет соотношение популяций в общем пуле В-лимфоцитов: В-лимфоциты с IgM-рецепторами — 3–10 %; В-лимфоциты с IgG-рецепторами — 2–6 %, В-лимфоциты с IgA-рецепторами — 1–3 %. С нарушением соотношения В-лимфоцитов связаны многие заболевания. Недостаточность В-клеток ведет к тяжелым иммунодефицитным состояниям, их избыточная активность — к развитию аутоиммунной патологии.

Следует отметить, что количество В-лимфоцитов в периферической крови — достаточно стойкий показатель гомеостаза, мало изменяющийся при различных воздействиях, поэтому отклонение его величины от нормальной может служить одним из важных критериев иммунопатологии.

Во второй половине нормально развивающегося воспалительного процесса в большинстве случаев повышается в крови относительное количество В-лимфоцитов. Наиболее часто это наблюдается при вирусных инфекциях. Как правило, данный показатель повышается параллельно увеличению регионарных лимфоузлов. Процентное содержание В-лимфоцитов нарастает обычно при затяжных воспалительных процессах. Для клинициста наиболее важное значение имеет анализ уровня В-лимфоцитов после окончания клинических проявлений воспалительного процесса. Во всех случаях на полное окончание процесса указывает нормализация относительного количества В-клеток. Нередко после клинического завершения воспалительного процесса у пациента остаются увеличенными регионарные лимфоузлы. В связи с этим встает вопрос о том, чем это вызвано: продолжающимся воспалением в лимфоузлах (лимфаденитом), остаточной активностью лимфопролиферативных реакций на депонированный антиген или же перерождением соединительной ткани лимфоузлов. Повышение числа В-лимфоцитов при снижении уровня Т-лимфоцитов свидетельствует о наличии в лимфоузлах воспалительного процесса. Если в иммунограмме на фоне нормализации всех ее показателей остается повышенным лишь процент В-клеток,



это говорит об остаточной пролиферативной реакции лимфоидной ткани в лимфоузлах. Нормализация всех показателей иммунограммы, включая содержание В-лимфоцитов, свидетельствует о наличии склеротических изменений в лимфоузлах. Заболевания и состояния, при которых изменяется количество В-лимфоцитов CD20 в крови, представлены в табл. 1.18.

Таблица 1.18

**Заболевания и состояния, при которых изменяется количество В-лимфоцитов CD20 в крови**

Повышение показателя	Снижение показателя
Острые бактериальные, грибковые и паразитарные инфекции	Физиологическая гипогаммаглобулинемия у детей в возрасте 3–5 мес.
СПИД (начальный период)	Врожденная гипогаммаглобулинемия или агаммаглобулинемия
Хронические заболевания печени, цирроз печени, вирусный гепатит	Новообразования иммунной системы
Аутоиммунные заболевания	Лечение цитостатиками и иммунодепрессантами
Ревматоидный артрит	Состояние после удаления селезенки
СКВ	Недостаточность гуморального иммунитета
Ревматизм, коллагенозы	
Саркоидоз, муковисцидоз	
Болезнь Вильденстрема	
Инфекционный мононуклеоз	
Хронический лимфолейкоз	
Моноклональная гаммапатия	
Острый период повторной инфекции, иммунный ответ на тимуснезависимые антигены	

Ряд острых и хронических лейкозов характеризуется именно патологическим увеличением содержания в крови В-лимфоцитов. Инфицирование В-лимфоцитов вирусом Эпштейна—Барр ведет к инфекционному мононуклеозу. Повышенный в течение длительного времени уровень В-лимфоцитов характерен для больных тиреотоксикозом.

С повышенной продукцией антител (инфекция, поликлональная активация, аутоиммунный процесс и др.) связано образование иммунных комплексов с патологическими свойствами, которые при наличии ряда условий (например, нарушение выведения иммунных комплексов, изменение их физико-химических свойств) могут привести к формированию иммунокомплексной патологии.

#### 1.3.2.2. Активированные В-лимфоциты (CD23) в крови

**Количество В-лимфоцитов CD23 в крови для взрослых в норме составляет 6–12 %.**

Показатель характеризует активность иммунного ответа на митогены. Увеличение активированных В-лимфоцитов (CD23) в крови может свидетельствовать о развитии аутоиммунного или атопического воспалительного процесса.

#### 1.3.2.3. В-лимфоциты, несущие IgA, в крови

**Количество В-лимфоцитов, несущих IgA, в крови у взрослых в норме составляет 1–3 %, абсолютное количество —  $0,02 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$ .**

В-лимфоциты неоднородны в своей популяции и выполняют различные функции. Основная из них — секреция иммуноглобулинов. Зрелые В-лимфоциты экспрессируют иммуноглобулины на клеточной мембране. Такие мембранные иммуноглобулины функционируют как антигенспецифические рецепторы и являются важнейшими маркерами В-лимфоцитов.

В-лимфоциты, несущие IgA, — клетки гуморального иммунитета, ответственные за синтез антител. Они образуются в костном мозге, ведут «оседлый образ жизни», скапливаясь в основном в периферических лимфоидных органах. В периферической крови их содержится лишь 1–3 %. Важное значение в оценке гуморального иммунитета имеет соотношение популяций в общем пуле В-лимфоцитов. Нарушение соотношения характерно для недостаточности гуморального иммунитета. Определение уровня В-лимфоцитов с Ig-рецепторами играет важную роль в установлении типа миеломы, а при лимфопролиферативных заболеваниях — для установления локализации блока созревания В-лимфоцитов. Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества В-лимфоцитов, несущих IgA, представлены в табл. 1.19.

Таблица 1.19

**Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества В-лимфоцитов, несущих IgA**

Повышение показателя	Снижение показателя
Острые и хронические бактериальные, грибковые и паразитарные инфекции	Физиологическая гипогаммаглобулинемия у детей в возрасте 3–5 мес.
Хронические заболевания печени, цирроз	Врожденная гипогаммаглобулинемия или агаммаглобулинемия
Ревматоидный артрит	
СКВ	Заболевания, приводящие к истощению иммунной системы: • новообразования иммунной системы; • состояние после удаления селезенки; • лечение цитостатиками и иммунодепрессантами
Хронический лимфолейкоз	
Эндотелиомы, остеосаркомы	
Миеломная болезнь	
Макроглобулинемия Вальденстрема	
Кандидомикоз, муковисцидоз	
Болезни дыхательных путей (астма, туберкулез)	
Моноклональная гаммапатия	Хроническая бактериальная инфекция

#### 1.3.2.4. В-лимфоциты, несущие IgM, в крови

**Количество В-лимфоцитов, несущих IgM, в крови у взрослых в норме составляет 3–10 %, абсолютное количество —  $0,07 \pm 0,17 \times 10^9/\text{л}$ .**

В-лимфоциты, несущие IgM, — клетки гуморального иммунитета, ответственные за синтез антител. Они образуются в костном мозге, ведут «оседлый образ жизни», в основном в периферических лимфоидных органах. В периферической крови их содержится лишь 3–10 %. После связывания антигена с поверхностными IgM-рецепторами В-лимфоцитов последние преактивируются и подготавливаются к синтезу ДНК и делению. Для пролиферации В-лимфоцитов необходимы ростовые факторы (IL-4), а для образования иммуноглобулинпродуцирующих плазматических клеток — IL-5 и IL-6 в качестве факторов, определяющих дифференцировку В-лимфоцитов.

Важное значение в оценке гуморального иммунитета имеет соотношение популяций в общем пуле В-лимфоцитов. Нарушение соотношения характерно для недостаточности гуморального иммунитета.

Повышение В-лимфоцитов с IgM-рецепторами характерно для острой фазы воспалительного процесса. Если повышения В-лимфоцитов с IgM-рецепторами в острый период заболевания не выявляется, это свидетельствует о недостаточности гуморального иммунитета, связанной с нарушением синтеза IgM. Уровень В-лимфоцитов и IgM-рецепторов повышается раньше, чем в крови выявляется повышенный уровень IgM, поэтому данный показатель может быть использован для ранней диагностики инфекционных заболеваний. Для миеломы, синтезирующей IgM, характерно преобладание в крови В-лимфоцитов с IgM-рецепторами среди всех популяций В-лимфоцитов. При лимфолейкозах определение уровня В-лимфоцитов с IgM-рецепторами в крови позволяет уточнить локализацию места блока созревания В-лимфоцитов. Отсутствие или небольшое количество В-лимфоцитов с IgM-рецепторами свидетельствует о том, что блок произошел на уровне пре-В-лимфоцитов. Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества В-лимфоцитов, несущих IgM, представлены в табл. 1.20.

Таблица 1.20

**Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества В-лимфоцитов, несущих IgM**

Повышение показателя	Снижение показателя
Острые и хронические бактериальные, грибковые и паразитарные инфекции	Физиологическая гипогаммаглобулинемия у детей в возрасте 3–5 мес.
Хронические заболевания печени, цирроз	Врожденная гипогаммаглобулинемия или агаммаглобулинемия
Аутоиммунные заболевания	
Ревматоидный артрит	Заболевания, приводящие к истощению иммунной системы: <ul style="list-style-type: none"> <li>• новообразования иммунной системы;</li> <li>• состояние после удаления селезенки;</li> <li>• лечение цитостатиками и иммунодепрессантами;</li> <li>• облучение ионизирующей радиацией</li> </ul>
СКВ	
Острый и хронический лимфолейкоз	
Эндотелиомы, остеосаркомы	
Миеломная болезнь	

Окончание табл. 1.20

Повышение показателя	Снижение показателя
Макроглобулинемия Вильгельмстрема	Хроническая вирусная инфекция
Кашиломикоз, муковисцидоз	
Болезни дыхательных путей (астма, туберкулез)	
Моноклональная гаммапатия	

### 1.3.2.5. В-лимфоциты, несущие IgG, в крови

**Количество В-лимфоцитов, несущих IgG, в крови у взрослых в норме составляет 2–6 %, абсолютное количество —  $0,04+0,11 \times 10^9/л$ .**

В-лимфоциты, несущие IgG, — клетки гуморального иммунитета, ответственные за синтез антител. Образуются в костном мозге, ведут «оседлый образ жизни», в основном в периферических лимфоидных органах. В периферической крови их содержится лишь 2–6 %. Важное значение в оценке гуморального иммунитета имеет соотношение популяций в общем пуле В-лимфоцитов. Нарушение соотношения характерно для недостаточности гуморального иммунитета. Повышение количества В-лимфоцитов, несущих IgG, в крови характерно для разрешающихся воспалительных процессов. В клинической практике при контроле за течением воспалительного процесса очень важно одновременно определять уровень В-лимфоцитов, несущих IgM и IgG. При обычном протекании воспалительного процесса в острую его фазу характерно повышение В-лимфоцитов, несущих IgM; разрешение воспалительного процесса сопровождается снижением количества этих лимфоцитов и повышением числа В-лимфоцитов, несущих IgG. Нарушение этих закономерностей свидетельствует о недостаточности гуморального иммунитета и указывает на звено, за счет которого идет нарушение.

Повышение В-лимфоцитов, несущих IgG, характерно для миеломы, синтезирующей IgG. Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества В-лимфоцитов, несущих IgG, представлены в табл. 1.21.

Таблица 1.21

**Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества В-лимфоцитов, несущих IgG**

Повышение показателя	Снижение показателя
Хронические бактериальные, грибковые и паразитарные инфекции, СПИД	Физиологическая гипогаммаглобулинемия у детей в возрасте 3–5 мес.
Хронические заболевания печени (вирусный гепатит, цирроз)	Врожденная гипогаммаглобулинемия или агаммаглобулинемия
Аутоиммунные заболевания	Заболевания, приводящие к истощению иммунной системы: <ul style="list-style-type: none"> <li>• новообразования иммунной системы;</li> <li>• лечение цитостатиками и иммунодепрессантами;</li> <li>• облучение ионизирующей радиацией</li> </ul>
Ревматоидный артрит	
СКВ	
Ревматизм, коллагенозы	
Саркоидоз, муковисцидоз	
Болезнь Вальденстрема	Гемоглобинопатии
Инфекционный мононуклеоз	Состояние после удаления селезенки
Хронический лимфоблейкоз	Хроническая вирусная инфекция
Миеломная болезнь	
Моноклональная гаммапатия	
Реконвалесценция первичной бактериальной инфекции	
Острый период повторной инфекции	

**1.3.2.6. Общее количество Т-лимфоцитов (CD3) в крови**

Общее количество Т-лимфоцитов в крови у взрослых в норме составляет 58–76 %, абсолютное количество —  $1,1-1,7 \times 10^9/\text{л}$ .

Зрелые Т-лимфоциты отвечают за реакции клеточного иммунитета и осуществляют иммунологический надзор за антигенным гомеостазом в организме. Они образуются в костном мозге, а получают дифференцировку в вилочковой железе, где разделяются на эффекторные (Т-лимфоциты-киллеры, Т-лимфоциты гиперчувствительности замедленного типа) и регуляторные (Т-лимфоциты-хелперы, Т-лимфоциты-супрессоры) клетки. В соответствии с этим Т-лимфоциты выполняют в организме две важные функции: эффекторную и регуляторную. Эффекторная функция Т-лимфоцитов —

специфическая цитотоксичность по отношению к чужеродным клеткам. Регуляторная функция (система Т-хелперы—Т-супрессоры) состоит в контроле за интенсивностью развития специфической реакции иммунной системы на чужеродные антигены. Разнообразны регуляторные влияния Т-лимфоцитов на клетки моноцитарно-макрофагального ряда. Способность Т-лимфоцитов синтезировать и продуцировать цитокины позволяет им участвовать в регуляции не только функций иммунитета, но и многих жизненно важных процессов. В основе ряда заболеваний лежит патология в Т-зависимом звене иммунной системы, которая в одних случаях непосредственно связана с поражением Т-лимфоцитов, а в других — опосредована через нарушение иммунорегуляции. Снижение абсолютного количества Т-лимфоцитов в крови свидетельствует о недостаточности клеточного иммунитета, повышение — о гиперактивности иммунитета и наличии иммунопролиферативных заболеваний.

Развитие любого воспалительного процесса сопровождается практически на всем его протяжении снижением содержания Т-лимфоцитов. Это наблюдается при воспалениях самой разнообразной этиологии: различных инфекциях, неспецифических воспалительных процессах, при разрушении поврежденных тканей и клеток после операции, травмы, ожогов, инфаркта, разрушении клеток злокачественных опухолей, трофических разрушениях и т. д. Снижение количества Т-лимфоцитов определяется интенсивностью идущего воспалительного процесса, однако такая закономерность наблюдается не всегда. Т-лимфоциты наиболее быстро из всех иммунокомпетентных клеток реагируют на начало воспалительного процесса. Эта реакция проявляется еще до развития клинической картины заболевания. Повышение количества Т-лимфоцитов в течение воспалительного процесса является благоприятным признаком, а высокий уровень Т-лимфоцитов при резко выраженных клинических проявлениях такого процесса, напротив, — неблагоприятный признак, указывающий на вялое течение воспалительного процесса с тенденцией к хронизации. Полное завершение воспалительного процесса сопровождается нормализацией количества Т-лимфоцитов. Повышение относительного количества Т-лимфоцитов не имеет для клиники большого значения. Однако увеличение абсолютного количества Т-лимфоцитов в крови очень важно для диагностики лейкозов. Заболевания и состояния, при-

водящие к изменению количества Т-лимфоцитов (CD3) в крови, представлены в табл. 1.22.

Таблица 1.22

**Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества Т-лимфоцитов (CD3) в крови**

Повышение показателя	Снижение показателя
Гиперактивность иммунитета	Врожденные дефекты иммунной системы (первичные иммунодефицитные состояния)
Острый и хронический лимфоблейкозы	
Синдром Сезари	Приобретенные вторичные иммунодефицитные состояния: <ul style="list-style-type: none"> <li>• бактериальные, вирусные, протозойные инфекции с затяжным и хроническим течением;</li> <li>• туберкулез, лепра, СПИД;</li> <li>• злокачественные опухоли;</li> <li>• тяжелые ожоги, травмы, стресс;</li> <li>• старение, недостаточность питания;</li> <li>• прием кортикостероидов;</li> <li>• лечение цитостатиками и иммунодепрессантами;</li> <li>• облучение ионизирующей радиацией</li> </ul>
	Т-клеточная лимфома
	Волосатоклеточный лейкоз

### 1.3.2.7. Т-лимфоциты-хелперы (CD4) в крови

Количество Т-лимфоцитов-хелперов в крови у взрослых в норме составляет 36–55 %, абсолютное количество —  $0,4+1,1 \times 10^9/л$ .

Т-лимфоциты-хелперы — индукторы иммунного ответа, клетки, регулирующие силу иммунного ответа организма на чужеродный антиген, контролирующие постоянство внутренней среды организма (антигенный гомеостаз) и обуславливающие повышенную выработку антител. Увеличение количества Т-лимфоцитов-хелперов свидетельствует о гиперактивности иммунитета, снижение — об иммунологической недостаточности.

Ведущее значение в оценке состояния иммунной системы имеет соотношение Т-хелперов и Т-супрессоров в периферической крови, так как от этого зависит интенсивность иммунного ответа. В норме цитотоксических клеток и антител должно вырабатываться столь-



ко, сколько необходимо для выведения того или иного антигена. Недостаточная активность Т-супрессоров ведет к преобладанию влияния Т-хелперов, что способствует более сильному иммунному ответу (выраженной антителопродукции и/или длительной активации Т-эффекторов). Избыточная активность Т-супрессоров, напротив, приводит к быстрому подавлению и abortивному течению иммунного ответа и даже явлениям иммунологической толерантности (иммунологический ответ на антиген не развивается). При сильном иммунном ответе возможно развитие аутоиммунных и аллергических процессов. Высокая функциональная активность Т-супрессоров при таком ответе не позволяет развиваться адекватному иммунному ответу, в связи с чем в клинической картине иммунодефицитов преобладают инфекции и предрасположенность к злокачественному росту. Индекс CD4/CD8, равный 1,5–2,5, соответствует нормергическому состоянию, более 2,5 — гиперактивности, менее 1,0 — иммунодефициту. При тяжелом течении воспалительного процесса соотношение CD4/CD8 может быть меньше 1. Принципиальное значение это соотношение имеет в оценке иммунной системы у больных СПИДом. При данном заболевании вирус иммунодефицита человека избирательно поражает и разрушает CD4-лимфоциты, в результате чего соотношение CD4/CD8 понижается до значений значительно меньше 1.

Повышение соотношения CD4/CD8 (до 3) нередко отмечается в острой фазе различных воспалительных заболеваний за счет повышения уровня Т-хелперов и снижения уровня Т-супрессоров. В середине воспалительного заболевания отмечаются медленное снижение уровня Т-хелперов и повышение уровня Т-супрессоров. При стихании воспалительного процесса эти показатели и их соотношения нормализуются. Повышение соотношения CD4/CD8 характерно практически для всех аутоиммунных заболеваний: гемолитической анемии, иммунной тромбоцитопении, тиреоидита Хашимото, пернициозной анемии, синдрома Гудпасчера, СКВ, ревматоидного артрита. Увеличение соотношения CD4/CD8 за счет снижения уровня CD8 при перечисленных заболеваниях выявляется обычно в разгаре обострения при большой активности процесса. Снижение соотношения CD4/CD8 из-за роста уровня CD8 характерно для ряда опухолей, в частности саркомы Капоши. Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества Т-лимфоцитов-хелперов (CD4) в крови, представлены в табл. 1.23.

Таблица 1.23

**Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества CD4 в крови**

Повышение показателя	Снижение показателя
Аутоиммунные заболевания	Врожденные дефекты иммунной системы (первичные иммунодефицитные состояния)  Приобретенные вторичные иммунодефицитные состояния: <ul style="list-style-type: none"> <li>• бактериальные, вирусные, протозойные инфекции с затяжным и хроническим течением;</li> <li>• туберкулез, лепра, СПИД;</li> <li>• злокачественные опухоли;</li> <li>• тяжелые ожоги, травмы, стресс;</li> <li>• старение, недостаточность питания;</li> <li>• прием кортикостероидов;</li> <li>• лечение цитостатиками и иммунодепрессантами;</li> <li>• облучение ионизирующей радиацией</li> </ul>
СКВ	
Синдром Шегрена, Фелли	
Ревматоидный артрит	
Системный склероз, коллагенозы	
Дерматомиозит, полимиозит	
Цирроз печени, гепатиты	
Тромбоцитопения, приобретенная гемолитическая анемия	
Смешанные заболевания соединительной ткани	
Болезнь Вальденстрема	
Тиреоидит Хашимото	
Активация антитрансплантационного иммунитета (криз отторжения донорских органов), усиление антителозависимой цитотоксичности	

### 1.3.2.8. Т-лимфоциты-супрессоры (CD8) в крови

Количество Т-лимфоцитов-супрессоров (CD8) в крови у взрослых в норме составляет 17–37 %, абсолютное число —  $0,3 \pm 0,7 \times 10^9/\text{л}$ .

CD8 — клетки-индукторы, тормозящие иммунный ответ организма. Т-супрессоры тормозят выработку антител различных классов вследствие задержки пролиферации и дифференцировки В-лимфоцитов, а также развитие гиперчувствительности замедленного типа. При нормальном иммунном ответе на попадание в организм чужеродного антигена максимальная активация Т-супрессоров отмечается спустя 3–4 нед. Т-супрессоры оказывают супрессирующий эффект при воспалительных процессах, вирусной инфекции и онкологических заболеваниях. Увеличение количества CD8 в крови свидетельствует о недостаточности иммунитета, снижение —

о гиперактивности иммунной системы. Ведущее значение в оценке состояния иммунной системы имеет соотношение хелперов и супрессоров в периферической крови — индекс CD4/CD8. Снижение функции Т-супрессоров ведет к преобладанию стимулирующего влияния Т-хелперов, в том числе и на те В-лимфоциты, которые продуцируют «нормальные» аутоантитела. При этом их количество может достигать критического уровня, что способно вызвать повреждение собственных тканей организма. Данный механизм повреждения характерен для развития ревматоидного артрита и СКВ. Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества Т-лимфоцитов-супрессоров (CD8) в крови, представлены в табл. 1.24.

Таблица 1.24

**Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества CD8-лимфоцитов в крови**

Повышение показателя	Снижение показателя
Приобретенные вторичные иммунодефицитные состояния: <ul style="list-style-type: none"> <li>• бактериальные, вирусные, протозойные инфекции с затяжным и хроническим течением;</li> <li>• туберкулез, лепра, СПИД;</li> <li>• злокачественные новообразования</li> </ul>	Аутоиммунные заболевания
	СКВ
	Синдром Шегрена, Фелти
	Ревматоидный артрит
	Системный склероз, коллагенозы
	Дерматомиозит, полимиозит
Тяжелые ожоги, травмы, стресс	Цирроз печени, гепатиты
Старение	Болезнь Вальденстрема
Лечение цитостатиками и иммунодепрессантами	Приобретенная гемолитическая анемия, тромбоцитопения
Облучение ионизирующей радиацией (острый период)	Смешанные заболевания соединительной ткани
Усиление супрессорной активности клеточного иммунитета	Активация антитрансплантационного иммунитета
	Первичные иммунодефицитные состояния

### 1.3.2.9. Естественные киллеры (CD16) в крови

Количество CD16-лимфоцитов в крови у взрослых в норме составляет 6–26 %.

CD16 — клетки-эффекторы, ответственные за противоопухолевый, противовирусный и трансплантационный иммунитет. NK-клетки представляют собой 3-ю популяцию лимфоцитов и отличаются от Т- и В-лимфоцитов как по происхождению, так и по функциональным свойствам и поверхностным рецепторам (у человека имеется две субпопуляции — CD16 и CD56). Они обладают спонтанной цитотоксической активностью против различных опухолевых клеток, клеток, инфицированных вирусами, и некоторых нормальных клеток; обеспечивая первый уровень защиты против опухолевых клеток и внутриклеточных инфекций до включения специфических иммунных механизмов. В отличие от других цитотоксических клеток, естественные киллеры опосредуют цитотоксические реакции без пресенсибилизации и без рестрикции по экспрессии антигенов I или II класса HLA на клетках-мишенях. Высокая цитотоксичность и способность продуцировать многие цитокины — вот основные свойства CD16, которые могут быть нарушены при многих заболеваниях. Снижение количества CD16 приводит к развитию онкологических заболеваний и утяжелению течения вирусных инфекций, аутоиммунных заболеваний, повышение — к кризу отторжения органов у реципиентов (табл. 1.25).

Таблица 1.25

**Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества CD16-лимфоцитов в крови**

Повышение показателя	Снижение показателя
Активация антитрансплантационного иммунитета, криз отторжения донорских органов у реципиентов	Онкологические заболевания
	Вторичные иммунодефицитные состояния, СПИД
	Тяжелые вирусные инфекции
Бронхиальная астма	Тяжелые ожоги, травмы, стресс
	Лечение цитостатиками и иммунодепрессантами
	Облучение ионизирующей радиацией
	Прием кортикостероидов

**1.3.2.10. Т-лимфоциты с рецепторами к IL-2 (CD25) в крови**

**Количество CD25-лимфоцитов в крови у взрослых в норме составляет 13–24%.**

CD25 — активированные Т-лимфоциты, стимулирующие антителообразование и цитотоксичность. Этот показатель отражает способность лимфоцитов к пролиферации и дифференцировке и характеризует функциональное состояние активированных Т-лимфоцитов. Сниженное количество свидетельствует об иммунологической недостаточности клеточного звена иммунитета. При гиперактивности иммунитета количество этих клеток возрастает (табл. 1.26).

Таблица 1.26

**Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества CD25-лимфоцитов в крови**

Повышение показателя	Снижение показателя
Гиперактивность иммунной системы при аллергических и аутоаллергических заболеваниях	Онкологические заболевания
	Вторичные иммунодефицитные состояния, СПИД
Активация антитрансплантационного иммунитета, криз отторжения донорских органов у реципиентов	Врожденные дефекты иммунной системы (первичные иммунодефицитные состояния)
	Тяжелые вирусные инфекции
Иммунный ответ на тимусзависимые антигены в остром периоде первичной инфекции	Тяжелые ожоги, травмы, стресс
	Лечение цитостатиками и иммунодепрессантами
	Облучение ионизирующей радиацией
	Прием кортикостероидов

### 1.3.2.11. Естественные киллеры (CD56) в крови

Количество CD56-лимфоцитов в крови у взрослых в норме составляет 9–19 %.

CD56 — клетки-эффекторы клеточного иммунитета, ответственные за противовирусный, противоопухолевый и трансплантационный иммунитет (см. выше CD16). Разрушают клетки-мишени (трансплантат, пораженная вирусом клетка, онкогенная клетка). Снижение количества Т-лимфоцитов-киллеров приводит к развитию онкологических заболеваний и утяжелению течения вирусных инфекций (табл. 1.27).

Таблица 1.27

**Заболевания и состояния, приводящие к изменению количества CD56-лимфоцитов в крови**

Повышение показателя	Снижение показателя
Активация антитрансплантационного иммунитета: <ul style="list-style-type: none"> <li>• криз отторжения донорских органов у реципиентов;</li> <li>• усиление антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности</li> </ul>	Онкологические заболевания
	Вторичные иммунодефицитные состояния, СПИД
	Врожденные дефекты иммунной системы (первичные иммунодефицитные состояния)
	Тяжелые вирусные инфекции
	Тяжелые ожоги, травмы, стресс
	Лечение цитостатиками, иммунодепрессантами, кортикостероидами, облучение ионизирующей радиацией

**1.3.2.12. Реакция торможения миграции лейкоцитов в крови**

Величины реакции торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) в крови в норме следующие: процент миграции с фитогемагглютинином (ФГА) — 20–80 %, с конканявалином А (КонА) — 40–75 %, со специфическим антигеном — 80–120 %.

Тест РТМЛ позволяет оценить способность Т-лимфоцитов к выработке лимфокинов в ответ на антигенную стимуляцию, в частности фактора, угнетающего миграцию лейкоцитов крови. Этот тест оценки функциональной активности Т-лимфоцитов может быть использован для диагностики иммунологической недостаточности (реакция с митогенами), гиперчувствительности (аллергии) замедленного типа (реакция со специфическим антигеном или аллергеном). РТМЛ может быть также использована для выявления иммунного ответа на возбудителей инфекций, для определения степени гистосовместимости и при опухолевых процессах.

Этот тест характеризует активность воспалительного процесса. Увеличение показателей РТМЛ должно рассматриваться как прогностически благоприятный фактор; клинически это сопровождается более быстрым выздоровлением больных острыми хирургическими заболеваниями после оперативного вмешательства и укорочением послеоперационного периода. Торможение миграции лейкоцитов

может быть очень значительным при аллергических реакциях. Заболевания и состояния, приводящие к изменению РТМЛ, представлены в табл. 1.28.

Таблица 1.28

**Заболевания и состояния, приводящие к изменению РТМЛ**

Повышение показателя	Снижение показателя
Функциональная недостаточность Т-лимфоцитов, иммунодефицит (в том числе СПИД), врожденные дефекты Т-звена иммунитета	Снижение процента миграции со специфическим антигеном или аллергеном свидетельствует о сенсibilизации лимфоцитов к этим антигенам (аллергии)
Хронизация воспалительного процесса	
Новообразования	Снижение процента миграции с митогенами (ФГА, Кона) свидетельствует о гиперактивности иммунной системы при аллергических и аутоаллергических заболеваниях
Тяжелые ожоги, травмы, стресс	
Кишечные и почечные синдромы потери белка, старение	
Недостаточность питания	
Лечение психостатиками и иммунодепрессантами	
Облучение ионизирующей радиацией	

**1.3.2.13. Спонтанная реакция бластной трансформации лимфоцитов**

Величина спонтанной бластной трансформации лимфоцитов у взрослых в норме — до 10 %.

Таблица 1.29

**Заболевания и состояния, при которых изменяется спонтанная бластная трансформация лимфоцитов**

Повышение показателя	Снижение показателя
Гиперактивность иммунной системы при аллергических и аутоаллергических заболеваниях	Онкологические заболевания
	Вторичные иммунодефицитные состояния
Активация антитрансплантационного иммунитета	Врожденные дефекты иммунной системы (первичные иммунодефицитные состояния), СПИД
Криз отторжения донорских органов	

Окончание табл. 1.29

Повышение показателя	Снижение показателя
Острый период первичной инфекции	Тяжелые вирусные инфекции
Иммунный ответ на тимусзависимые антигены	Тяжелые ожоги, травмы
	Лечение цитостатиками и иммунодепрессантами
	Облучение ионизирующей радиацией
	Прием кортикостероидов

Спонтанная бластная трансформация лимфоцитов — способность лимфоцитов к трансформации без стимуляции. Исследование выполняют для оценки функциональной активности Т-лимфоцитов. Изменение показателей теста в ту или иную сторону говорит о нарушении функциональной активности Т-лимфоцитов. Применяется для комплексной оценки иммунного статуса больного. Заболевания и состояния, при которых изменяется спонтанная бластная трансформация лимфоцитов, представлены в табл. 1.29.

#### 1.3.2.14. Стимулированная реакция бластной трансформации лимфоцитов с митогенами (ФГА, КонА)

*Величина стимулированной реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ) у взрослых в норме с ФГА составляет 44–72 %, с КонА — 40–75 %.*

О функциональной активности Т- и В-лимфоцитов судят по РБТЛ с использованием митогенов — ФГА, КонА, лакомоса, липополисахаридов и др.

Стимулированная РБТЛ с митогенами (ФГА, КонА) характеризует функциональную способность Т-лимфоцитов к трансформации и размножению под воздействием антигенов, аллергенов и митогенов. Под воздействием последних Т-клетки превращаются в бласты и делятся в ответ на антиген, попавший в организм, т. е. в ответ на митогены происходит увеличение количества Т-клеток. О функциональной активности В-лимфоцитов судят по бластной трансформации в ответ на стимуляцию липополисахаридом, а на стимуляцию митогеном латекса — о кооперативных процессах между Т- и В-лимфоцитами. Проллиферативный ответ лимфоцитов



на антигены дает представление о выраженности специфической сенсибилизации организма. Состояния и заболевания, приводящие к ее изменению, аналогичны изменениям бластной трансформации лимфоцитов без стимуляции. Применяют для комплексной оценки иммунного статуса больного.

#### 1.3.2.15. Агломерация лейкоцитов крови

**Величина агломерации лейкоцитов крови в норме — не выше 30 % от контроля; реакция отрицательная — менее 30 %, слабоположительная — 30–40 %, положительная — 40–50 %, резко положительная — более 50 %.**

Определение агломерации лейкоцитов крови — метод выявления сенсибилизации организма к аллергенам и лекарственным препаратам. Он основан на эффекте усиления склеивания лейкоцитов при добавлении к крови специфического аллергена, что является одной из первых фаз специфической аллергической реакции клеток крови. При отсутствии сенсибилизации склеивания клеток не происходит. При проведении данного теста необходимо учитывать требования к аллергенам, используемым в реакции. Они должны быть водорастворимыми, не оказывать цитотоксического и раздражающего действия, монокомпонентными, химически чистыми. Для исключения ложноположительных результатов исследование назначается в период ремиссии спустя 7 дней после клинических проявлений.

Тест используется для диагностики аллергии при следующих патологических состояниях:

- анафилактический шок;
- сывороточная болезнь;
- лекарственная аллергия;
- крапивница, отек Квинке;
- псевдоаллергия.

#### 1.3.3. Антигеннеспецифические факторы иммунной защиты организма

Антигеннеспецифические факторы иммунной защиты организма принимают непосредственное участие в начале, в период развития и в конечной фазе иммунного ответа. Реактивность данной системы

не дифференцирована по отношению к конкретному антигену и направлена против любых инфекционных и неинфекционных агентов. В системе антигеннеспецифической защиты организма можно выделить несколько важных звеньев:

- фагоцитоз;
- лизоцим;
- система комплемента;
- белки острой фазы;
- цитокины.

Определение состояния антигеннеспецифических факторов иммунной защиты организма имеет важное значение в комплексной оценке иммунного статуса. От состояния антигеннеспецифических защитно-приспособительных механизмов зависит исход начальной стадии инфекционно-воспалительного процесса. Резкое и длительное их угнетение — неблагоприятный прогностический признак.

#### 1.3.3.1. Фагоцитоз

Фагоцитоз — поглощение клеткой крупных частиц, видимых в микроскоп (например, микроорганизмов, крупных вирусов, поврежденных тел клеток и т. д.). Процесс фагоцитоза можно подразделить на две фазы. В первой фазе частицы связываются на поверхности мембраны. Во второй фазе происходит собственно поглощение частицы и ее дальнейшее разрушение. Различают две основные группы клеток фагоцитов — мононуклеарные и полинуклеарные. Полинуклеарные нейтрофилы составляют первую линию защиты от проникновения в организм разнообразных бактерий, грибов и простейших. Они уничтожают поврежденные и погибшие клетки, участвуют в процессе удаления старых эритроцитов и очистки раневой поверхности. Мононуклеарные фагоциты участвуют как в разрушении, так и в инициации и стимуляции фибропластических процессов. Они способствуют синтезу биологически активных веществ и формированию иммунного ответа (путем модификации антигенов и представления их лимфоцитам). Таким образом, клетки мононуклеарно-фагоцитарной системы играют важную роль в инициации иммунного ответа посредством захвата антигена, представления его Т-лимфоцитам и секреции ИЛ-1 (основного активатора Т-лимфоцитов).

Изучение показателей фагоцитоза имеет значение в комплексном анализе и диагностике иммунодефицитных состояний: часто

рецидивирующих гнойно-воспалительных процессах, длительно не заживающих ран, склонности к послеоперационным осложнениям. Исследование системы фагоцитоза помогает в диагностике вторичных иммунодефицитных состояний, вызванных лекарственной терапией. В связи с тем что фагоциты участвуют в элиминации иммунных комплексов и активность фагоцитоза тесно связана с активностью компонентов комплемента, а именно С3, концентрацией IgG-антител, наличием других опсонизирующих факторов, исследование активности фагоцитоза играет важную роль в диагностике, оценке активности и эффективности терапии при ревматических заболеваниях, коллагенозах. Наиболее информативным для оценки активности фагоцитоза считают фагоцитарное число, количество активных фагоцитов и индекс завершенности фагоцитоза. О бактерицидной активности нейтрофилов судят по тесту восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) или лизосомально-катионному тесту (ЛКТ).

#### 1.3.3.1.1. Фагоцитарная активность нейтрофилов

Параметры, характеризующие состояние фагоцитоза:

**Фагоцитарное число:** норма — 5–10 микробных частиц. Фагоцитарное число — среднее количество микробов, поглощенных одним нейтрофилом крови. Характеризует поглотительную способность нейтрофилов.

**Фагоцитарная емкость крови:** норма —  $12,5 \pm 25 \times 10^9$ /л крови. Фагоцитарная емкость крови — количество микробов, которое могут поглотить нейтрофилы 1 л крови.

**Фагоцитарный показатель:** норма — 65–95%. Фагоцитарный показатель — процент нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе.

**Количество активных фагоцитов:** норма —  $1,6 \pm 5,0 \times 10^9$ /л крови. Количество активных фагоцитов — абсолютное число фагоцитирующих нейтрофилов в 1 л крови.

**Индекс завершенности фагоцитоза:** норма — более 1,0. Индекс завершенности фагоцитоза — переваривающая способность фагоцитов.

Фагоцитарная активность нейтрофилов обычно повышается в начале развития воспалительного процесса. Ее снижение ведет к хронизации воспалительного процесса и поддержанию аутоиммунного процесса, так как при этом нарушается функция разрушения и выведения иммунных комплексов из организма.

Заболевания и состояния, при которых изменяется фагоцитарная активность нейтрофилов, представлены в табл. 1.30.

Таблица 1.30

Заболевания и состояния, при которых изменяется фагоцитарная активность нейтрофилов

Повышение показателя	Снижение показателя
Антигенное раздражение вследствие бактериального воспаления (продормальный период, период острого проявления инфекции) при нормальной активности фагоцитоза	Хронические воспалительные заболевания бактериальной и вирусной природы
Лейкоцитоз	Врожденные дефекты фагоцитарной системы, синдром Чедиака—Хигаси, болезнь Дауна, СКВ, коллагенозы, болезни иммунных комплексов, недостаток иммуноглобулинов, комплемента
Аллергия	
Аутоаллергические заболевания	Лечение цитостатиками и иммунодепрессантами
Усиление антителозависимой цитотоксичности и реакции на донорский трансплантат	Облучение ионизирующей радиацией
	Вторичные и первичные иммунодефициты
	Новообразования
	Тяжелые ожоги, травмы, стресс
	Кишечные и почечные синдромы потери белка
	Недостаточность питания
	Недостаточность фагоцитоза
Хронизация воспалительного процесса	

#### 1.3.3.1.2. Спонтанный тест с НСТ

Величина спонтанного НСТ-теста в крови в норме: у взрослых количество НСТ-положительных нейтрофилов до 10 %.

Спонтанный НСТ-тест позволяет оценить состояние кислородзависимого механизма бактерицидности фагоцитов (гранулоцитов) крови *in vitro*. Он характеризует состояние и степень активации вну-

триклеточной НАДФ-Н-оксидазной антибактериальной системы. Принцип метода основан на восстановлении поглощенного фагоцитом растворимого красителя нитросинего тетразолия в нерастворимый диформазап под влиянием супероксиданиона (предназначен для внутриклеточного уничтожения инфекционного агента после его фагоцитирования), образующегося в НАДФ-Н-оксидазной реакции. Показатели НСТ-теста повышаются в начальном периоде острых бактериальных инфекций, тогда как при подостром и хроническом течении инфекционного процесса они снижаются. Санация организма от возбудителя сопровождается нормализацией показателя. Резкое снижение свидетельствует о декомпенсации противoinфекционной защиты и является прогностически неблагоприятным признаком.

Тест с НСТ играет важную роль в диагностике хронических гранулематозных заболеваний, которые характеризуются наличием дефектов в НАДФ-Н-оксидазном комплексе. Для пациентов с хроническими гранулематозными заболеваниями характерно наличие возвратных микробных инфекций (пневмония, лимфаденит, абсцессы легких, печени, кожи), вызываемых *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella species*, *Candida albicans*, *Salmonella species*, *Escherichia coli*, *Aspergillus species*, *Pseudomonas cepacia*, *Mycobacteria* и *Pneumocystis carinii*.

Нейтрофилы у пациентов с хроническими гранулематозными заболеваниями имеют нормальную фагоцитарную функцию, но вследствие дефекта в НАДФ-Н-оксидазном комплексе не способны уничтожать микроорганизмы. Наследственные дефекты этого комплекса в большинстве случаев являются X-сцепленными, реже — аутосомно-рецессивными.

**Снижение показателей спонтанного НСТ-теста** характерно для хронизации воспалительного процесса, врожденных дефектов фагоцитарной системы, вторичных и первичных иммунодефицитов, СПИДа, злокачественных новообразований, тяжелых ожогов, травм, стрессов, недостаточности питания, лечения цитостатиками и иммунодепрессантами, облучения ионизирующей радиацией.

**Повышение показателей спонтанного НСТ-теста** отмечается при антигенном раздражении вследствие бактериального воспаления (продромальный период, период острого проявления инфекции при нормальной активности фагоцитоза), хроническом гранулема-

тозе, лейкоцитозе, усилении антителозависимой цитотоксичности фагоцитов, аутоаллергических заболеваниях, аллергии.

#### 1.3.3.1.3. Активированный тест с НСТ

**Величина активированного НСТ-теста в крови в норме: у взрослых число НСТ-положительных нейтрофилов — 40–80 %.**

Активированный НСТ-тест позволяет оценить функциональный резерв кислородзависимого механизма бактерицидности фагоцитов. Тест используют для выявления резервных возможностей внутриклеточных систем фагоцитов. При сохраненной внутриклеточной антибактериальной активности в фагоцитах происходит резкое возрастание числа формазанположительных нейтрофилов после их стимуляции латексом. Снижение показателей активированного НСТ-теста (нейтрофилов ниже 40 % и моноцитов ниже 87 %) свидетельствует о недостаточности фагоцитоза.

#### 1.3.3.2. Лизосомально-катионный тест

**Величина ЛКТ в крови в норме: средний цитохимический коэффициент для ЛКТ — 1,3–1,8 усл. ед.**

Таблица 1.31

**Заболевания и состояния, при которых изменяется ЛКТ**

Повышение показателя	Снижение показателя
Хронический гранулематоз	Хронические воспалительные заболевания, дефекты фагоцитарной системы, синдром Чедвика—Хигаси
Эозинофилия	
Атопическая аллергия (астма, ринит)	Хронические бактериальные инфекции
Паразитарные инфекции	Злокачественные новообразования с метастазами
Аллергические заболевания	СПИД
Усиление антителозависимой цитотоксичности фагоцитов и иммунологической реакции на донорский трансплантат	Лечение статинами и иммунодепрессантами
	Облучение ионизирующей радиацией

Тест позволяет оценить активность кислороднезависимого механизма бактерицидности фагоцитов по уровню катионных белков в лизосомах, которые способны обезвреживать фагоцитированные

бактерии. Катионные белки — это модификаторы дыхательных и ферментативных процессов в фагоците, медиаторы воспаления. Они содержатся в лизосомах нейтрофилов и эозинофилов и являются маркерами клеток гранулоцитарного ряда. Высокий уровень катионных белков в фагоцитах является благоприятным прогностическим признаком при воспалительных процессах и свидетельствует о высокой бактерицидности фагоцитирующих клеток. Тест может быть использован для диагностики миелоидных форм лейкозов, определения судьбы фагоцитированных бактерий в очагах воспаления и оценки процесса заживления ран. Заболевания и состояния, при которых изменяется ЛКТ, представлены в табл. 1.31.

### 1.3.3.3. Окислительный метаболизм гранулоцитов

**Величина ОМГ-теста крови у взрослых в норме составляет 141–214 нмоль/мл.**

ОМГ-тест позволяет оценить супероксиданиообразующую функцию гранулоцитов крови, «взрыв дыхания» в ответ на антигенную стимуляцию. ОМГ-тест — это показатель активности, завершенности фагоцитоза и антителозависимой цитотоксичности фагоцитов. При нарушении «взрыва» окислительного метаболизма фагоциты не способны к образованию интермедиатов кислорода, в результате чего организм больного становится особенно чувствителен к тем микроорганизмам, которые содержат антирадикальные ферменты (стафилококк, кишечная палочка, церрация, кандида, аспергилюс, хромобактерии). Кислородзависимый механизм бактерицидности играет ведущую роль в защите от инфекций. Завершенность фагоцитоза в конечном счете зависит от продукции этими клетками супероксиданионрадикала. Именно нарушения в процессе образования этого соединения являются причиной утраты резистентности при гранулематозной болезни. Антителозависимая цитотоксичность фагоцитов также обусловлена метаболизмом кислорода. Вместе с тем образующиеся радикалы кислорода могут оказывать повреждающее действие и на собственные ткани, что ведет к развитию воспаления (аутоиммунные процессы). Заболевания и состояния, при которых изменяется ОМГ-тест, представлены в табл. 1.32.

Таблица 1.32

**Заболевания и состояния, при которых изменяется ОМГ-тест**

Повышение показателя	Снижение показателя
Аутоиммунные заболевания	Хронизация воспалительного процесса за счет недостаточности фагоцитоза или врожденных дефектов фагоцитарной системы
Туберкулез	
Усиление антителозависимой цитотоксичности фагоцитов и иммунологической реакции на донорский трансплантат	Тяжелые ожоги, травмы, СПИД
	Недостаточность питания
	Новообразования
	Лечение цитостатиками и иммунодепрессантами
	Облучение ионизирующей радиацией

**1.3.3.4. Лизоцим в крови**

**Референтные величины содержания лизоцима в крови 7,0–14,0 мкг/л (0,007–0,014 г/л).**

Лизоцим — фактор неспецифической резистентности, антибактериальный фермент мурамидаза. Это наиболее древний в филогенезе фактор противомикробной защиты. Он расщепляет мураминовую кислоту в составе оболочки грамположительных микроорганизмов, вызывая их бактериолиз. Лизоцим синтезируется гранулоцитами, моноцитами и макрофагами, которые секретируют его в сыворотку крови. Поэтому уровень лизоцима в сыворотке крови характеризует пролиферативную активность этих клеток, что может быть использовано для дифференциальной диагностики моноцитарных и лимфоцитарных лейкозов. Повышенная концентрация лизоцима в крови (более чем в 3 раза) является характерной для острого миеломоноцитарного ( $M_2$ ) и моноцитарного ( $M_3$ ) лейкозов. Острый лимфолейкоз не сопровождается повышением уровня лизоцима в крови или его повышение незначительно.

При лизисе грамотрицательных бактерий лизоцим действует совместно с системой комплемента. Он присутствует во всех жидкостях организма и является важным фактором бактерицидности. Определение его уровня дает возможность оценить активность фагоцитарной системы. Изменения содержания лизоцима в сыворотке крови при различных заболеваниях представлены в табл. 1.33.



Таблица 1.33

**Изменения содержания лизоцима в сыворотке при различных заболеваниях**

Повышение концентрации	Снижение концентрации
Острые и хронические миело- и моноцитарные лейкозы	Хронические бактериальные инфекции
Нейтрофильный лейкоцитоз	Хроническая гнойная инфекция, сепсис, перитонит
Туберкулез, саркоидоз	
Острая бактериальная инфекция	Пилопаллия костного мозга

**1.3.3.5. Лактоферрин в сыворотке крови****Референтные величины содержания лактоферрина в сыворотке крови  $\leq 1000$  нг/мл.**

Лактоферрин — железосвязывающий гликопротеин с молекулярной массой 83 000 Да, продуцируемый в основном клетками железистого эпителия и костного мозга. Он содержится во многих секретах человеческого организма, крови, моче, слюне, слезной и спинномозговой жидкости (СМЖ), сперме, цервикальной слизи. Лактоферрин относится к антигеннеспецифическим факторам иммунной защиты (обладает бактерицидной и бактериостатической активностью, участвует в регуляции гуморального и клеточного иммунитета), является белком острой фазы и, соответственно, важным маркером воспалительного процесса.

При инфекционно-воспалительных заболеваниях (аднексит, сальпингофорит и др.) уровень лактоферрина в сыворотке крови повышается в несколько раз.

В сыворотке крови беременных содержание лактоферрина повышено. Максимум концентрации белка регистрируют на 2–3-и сутки после родов (2000 нг/мл). Спустя 7 дней при неосложненном течении родов уровень лактоферрина нормализуется. При наличии у женщин послеродовых воспалительных и гнойно-септических осложнений содержание лактоферрина в сыворотке крови не только не снижается, а, напротив, увеличивается более чем в 2 раза (при лактационном мастите — в 6 раз, при легкой форме эндометрита — в 2,8 раза, при тяжелой — в 7,6 раза).

У женщин с гестозом уровень лактоферрина в крови снижается в зависимости от тяжести заболевания (при средней степени — на 20 %, при тяжелой степени — в 2,5 раза).

В клинической практике исследование лактоферрина может быть использовано в качестве универсального неспецифического маркера для мониторинга злокачественных опухолей.

### 1.3.3.6. Система комплемента

Система комплемента состоит из девяти последовательно активирующихся компонентов и трех ингибиторов. Эта система играет важную роль, особенно при воспалении и в развитии устойчивости организма к инфекционным агентам. Для того чтобы произошел лизис бактериальной или иной живой клетки, требуется активация от C3- до C9-компонента системы комплемента по классическому либо альтернативному пути. Система комплемента имеет большое значение не только в процессах цитолиза, но и в усилении фагоцитоза, нейтрализации вирусов, а также в иммунной адгезии, за счет которой к некоторым клеткам, включая и В-лимфоциты, прикрепляются комплексы антиген-антитело. Определенные компоненты комплемента участвуют в освобождении гистамина из тучных клеток (С3а). Они же являются хемотаксическими агентами для полиморфно-нуклеарных лейкоцитов. Существует прямая функциональная связь между системой комплемента и фагоцитарной системой, поскольку прямое или опосредованное (через антитела) связывание компонентов комплемента с бактериями является необходимым условием фагоцитоза. Вместе с антителами комплемент связывается с антигеном, образуя комплекс, участвующий в разрушении, уничтожении чужеродных клеток, а также в активировании фактически всех видов иммунокомпетентных клеток.

Дефекты в системе комплемента сопровождаются снижением антиинфекционной резистентности организма.

Одновременное определение трех показателей — C3, C4 и титра комплементарной активности позволяет оценить состояние как классического, так и альтернативного пути активации комплемента. Потребление комплемента по классическому пути (иммунные комплексы) сопровождается снижением всех трех показателей. При активации комплемента по альтернативному пути (например, при гломерулонефрите) C3 и титр комплементарной активности снижены,

а С4 (компонент классического каскада) остается в норме. Определение титра комплементной активности является хорошим скрининговым исследованием на дефицит комплемента (характеризует наличие всех компонентов пути активации комплемента). Сниженный или неопределяемый уровень титра комплементной активности свидетельствует о наследственном дефиците комплемента.

#### 1.3.3.6.1. Титр комплементной активности в сыворотке крови

**Титр комплементной активности в сыворотке крови у взрослых в норме составляет 50–140 Ед/мл.**

Титр комплемента в сыворотке крови оценивает активность терминальных компонентов комплемента при его активации по классическому или альтернативному пути.

Любой воспалительный процесс при адекватном иммунном ответе сопровождается повышением титра комплемента. Снижение титра свидетельствует о недостаточности комплемента и приводит к ослаблению его опсонизирующей функции и комплементзависимой цитотоксичности, что способствует накоплению иммунных комплексов и ведет к хронизации воспалительного процесса. Увеличение активности комплемента характерно для аллергических и аутоаллергических процессов. При тяжелых анафилактических реакциях титр комплемента снижается, а при анафилактическом шоке он может вовсе не определяться в сыворотке крови. Изменения титра комплемента в сыворотке крови при различных заболеваниях представлены в табл. 1.34.

Таблица 1.34

#### Изменения титра комплемента в сыворотке крови при различных заболеваниях

Повышение показателя	Снижение показателя
Аутоиммунные заболевания: <ul style="list-style-type: none"> <li>• ревматоидный артрит;</li> <li>• красная волчанка;</li> <li>• узелковый периартериит;</li> <li>• бактериальный эндокардит;</li> <li>• неспецифический инфекционный полиартрит</li> </ul>	Состояние после тяжелых операций, гнойные воспалительные процессы, сепсис, перитонит, гепатит, цирроз печени, иммунокомплексные заболевания
Острые бактериальные инфекции	Хронические, вялотекущие бактериальные инфекции

Окончание табл. 1.34

Повышение показателя	Снижение показателя
	Злокачественные новообразования с метастазами Множественная миелома Лечение цитостатиками и иммунодепрессантами

## 1.3.3.6.2. С3-компонент комплемента в сыворотке крови

**Референтные величины содержания С3 в сыворотке крови 0,55–1,2 г/л.**

С3 — ключевой компонент комплемента, необходимый для реализации цитолиза и анафилаксии. Он синтезируется в печени и входит в состав образующихся иммунных комплексов. С3 активируется по классическому пути комплексами антигена с IgG, IgM, по альтернативному пути — комплексами антигена с IgA, IgE, Fab-фрагментами Ig, полисахаридными антигенами бактерий.

Снижение уровня С3-компонента в крови приводит к ослаблению опсонизирующей функции крови, фагоцитоза, цитолиза и может быть связано с нарушением его синтеза или усилением катаболизма, а также адсорбцией его на иммунных комплексах при аутоиммунных и иммунокомплексных заболеваниях. Увеличение уровня С3 в сыворотке крови характерно для острого периода инфекции (белок «острой фазы»). В период реконвалесценции уровень С3 нормализуется. Изменения концентрации С3-компонента комплемента при различных заболеваниях представлены в табл. 1.35.

Таблица 1.35

**Изменения концентрации С3 при различных заболеваниях**

Повышение концентрации	Снижение концентрации
Острые бактериальные, грибковые, паразитарные и вирусные инфекции	Врожденные дефекты комплемента, недостаточность системы комплемента
Холестаз	Аутоиммунные заболевания
Желчнокаменная болезнь	СКВ Гломерулонефрит

Окончание табл. 1.35

Повышение концентрации	Снижение концентрации
	Рецидивирующие инфекции
	Болезнь Рейно
	Лимфогранулематоз, хронический лимфолейкоз
	Герпетический дерматит
	Иммунокомплексные заболевания
	Гепатит, цирроз печени
	Лечение шпгостатиками и иммунодепрессантами
	Облучение ионизирующей радиацией

#### 1.3.3.6.3. С4-компонент комплемента в сыворотке крови

**Референтные величины содержания С4 в сыворотке крови 0,2–0,5 г/л.**

С4 — компонент классического пути активации комплемента. Он синтезируется в печени. Определение его уровня важно для диагностики иммунокомплексных заболеваний, при которых он адсорбируется на иммунных комплексах, а количество свободного С4 в крови снижается. Изменения концентрации С4-компонента комплемента при различных заболеваниях представлены в табл. 1.36.

Таблица 1.36

#### Изменения концентрации С4 при различных заболеваниях

Повышение концентрации	Снижение концентрации
Злокачественные новообразования, саркомы, лимфомы	Болезни иммунных комплексов
	СКВ
	Гломерулонефрит
	Лечение цитостатиками и иммунодепрессантами

#### 1.3.3.7. Цитокины

Цитокины — протеины с небольшой молекулярной массой, секретируемые только лимфоцитами, макрофагами и предшественниками клеток крови; осуществляют активацию пролиферации и

дифференцировку клеток организма. Они действуют как регуляторы функций иммунной и гемопозитической систем. К цитокинам относятся интерлейкины, хемокины, факторы стимуляторов клеток, интерфероны, факторы супрессии, факторы некроза опухолей (TNF) и др. По своей активности цитокины превосходят такие биологически активные вещества, как гистамин, серотонин, гепарин. Цитокины действуют главным образом в зоне их образования в отличие от гормонов, которые транспортируются в любую точку организма. Они не менее активны, чем гормоны, но воздействуют, как правило, на клетки, расположенные рядом (паракринный эффект), или непосредственно на клетку, в которой они образовались (аутокринный эффект). Лишь некоторые из них (IL-1, TNF- $\alpha$ ) оказывают также общий, отдаленный от места образования цитокина эффект.

Большинство цитокинов и их рецепторы участвуют в иммунорегуляции и гемопозе (табл. 1.37). Неотрегулированная экспрессия различных цитокинов имеет место при воспалительных заболеваниях, аутоиммунных процессах, гемопозитических новообразованиях, включая множественную миелому, и злокачественных новообразованиях. Печень — основной орган, обеспечивающий клиренс циркулирующих цитокинов; ишемия, токсическое повреждение печени мешают элиминации цитокинов, приводя к повышению их уровня в крови.

Таблица 1.37

## Цитокинозависимые функции моноцитов/макрофагов

Функция моноцитов/макрофагов	Цитокины-эффекторы
Гемопозитическая	Г-КСФ, ГМ-КСФ, IL-1, IL-3, IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$
Иммуностимулирующая	IL-1 $\alpha,\beta$ , IL-3, IL-6, IL-12, IL-15, TNF- $\alpha$
Провоспалительная	IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$
Иммуносупрессивная	IL-10
Противовоспалительная	IL-6, IL-10

Современные представления о патогенезе сепсиса и других критических состояний (острая печеночная недостаточность, острый панкреатит, острая кишечная непроходимость и др.) основываются

на цитокиновой теории [Шляпников С. А. и др., 1997; Nask C. E. et al., 1992; Lowry S. F. et al., 1993]. Цитокинам отводится ведущая роль в развертывании медиаторного механизма сепсиса. При сепсисе имеет место неотрегулированная экспрессия различных цитокинов, поэтому с целью коррекции нарушений функций макрофагов иммуномодуляторами необходимо подходить к оценке нарушений соотношения цитокинов комплексно и анализировать их уровни в динамике. Считается, что ведущую роль в развитии генерализованного воспалительного каскада при сепсисе играют такие цитокины, как TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8.

#### 1.3.3.7.1. Фактор некроза опухолей в сыворотке крови

**Содержание TNF- $\alpha$  в сыворотке крови в норме равно 0–87 пг/мл.**

TNF- $\alpha$ , или *кахектин*, представляет собой гликозилированный белок. Название этого белка произошло от его противоопухолевой активности, связанной с геморрагическим некрозом. TNF- $\alpha$  синтезируется активированными макрофагами. Он обладает цитотоксическим действием, иммуномодулирующим и воспалительным эффектами. Участвует в противовирусном, противоопухолевом и трансплантационном иммунитете. TNF- $\alpha$  обладает цитостатическим и цитолитическим эффектом в отношении некоторых опухолей. Уничтожение опухолевых клеток осуществляется им интрацеллюлярно. TNF- $\alpha$  стимулирует макрофаги. Повышая защитные возможности организма, он способен вызывать кахексию путем ингибирования липопротеинлипазы. Может действовать независимо и в соединении с множеством других факторов, чтобы повлиять на фенотип и метаболизм клеток любой ткани. Последствия выхода эндогенного TNF- $\alpha$  могут быть полезными для больного или, наоборот, угрожающими для жизни. Это зависит от количества, длительности и распределения высвобожденного цитокина.

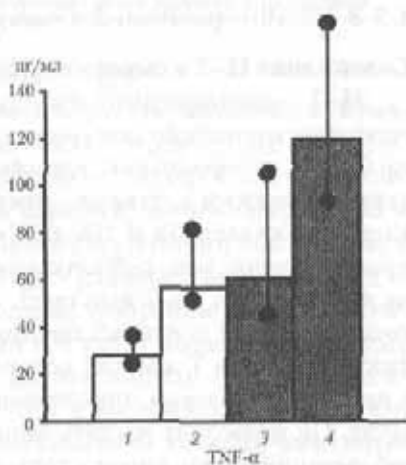
Основными действиями TNF- $\alpha$  являются следующие:

- стимуляция эндотелия и макрофагов на выделение «патологического» NO (оксид азота), что приводит к стойкому нарушению гемодинамики;
- увеличение адгезии нейтрофилов к сосудистой стенке и их миграция в ткани при воспалении и повреждении;
- метаболические и структурные повреждения самой эндотелиальной клетки;

- увеличение проницаемости самих мембран;
- стимуляция образования эйкозаноидов (простагландины, простациклин, тромбоксан, лейкотриены, эпоксиды).

При нормальном ответе на любой инфекционный процесс основной задачей  $TNF-\alpha$  является защита организма от чужеродного антигена — бактерий. В таких случаях под влиянием  $TNF-\alpha$  стимулируется NO, который активно соединяется с железосодержащими ферментами бактерий, иммобилизируя или убивая их.

В высокой концентрации  $TNF-\alpha$  способен повреждать клетки эндотелия и увеличивать микроваскулярную проницаемость; он вызывает активирование системы гемостаза и комплемента, за которым следует аккумуляция нейтрофилов и внутрисосудистое микротромбообразование (ДВС-синдром).  $TNF-\alpha$  увеличивает синтез IL-6 и IL-8, являющихся мощными аттрактантами для нейтрофилов [Schematkovsky A. et al., 1995]. Повышение уровня  $TNF-\alpha$  у больных с сепсисом носит фазный характер. Снижение содержания в крови  $TNF-\alpha$  при упорной инфекции отражает несостоятельность системы защиты организма [Pinsky M. R. et al., 1993]. У большинства больных с сепсисом в начальных стадиях выявляется устойчивое повышение в крови  $TNF-\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 [Тимохов В. С. и др., 1997; Taveiraq D. A. et al., 1993]. L. C. Casco и соавт. [1993] при исследовании цитокинового профиля у 97 больных с септическим синдромом выявили повышение уровня  $TNF-\alpha$  у 54 % пациентов, IL-1 — у 37 %, IL-6 — у 80 %; у 89 % больных выявлен высокий уровень эндотоксина в плазме. Уровень повышения в сыворотке крови  $TNF-\alpha$  имеет важное значение в определении тяжести сепсиса, что представлено на рис. 1.1.



**Рис. 1.1.** Уровень  $TNF-\alpha$  в зависимости от тяжести системного ответа на инфекционное воспаление:

1 — синдром системного воспалительного ответа; 2 — сепсис; 3 — тяжелый сепсис; 4 — септический шок



Типичные изменения концентрации  $TNF-\alpha$  при различных заболеваниях представлены в табл. 1.38.

Таблица 1.38

Изменения концентрации  $TNF-\alpha$  при различных заболеваниях

Повышение показателя	Снижение показателя
Пиперактивность иммунной системы при аллергических и аутоаллергических заболеваниях	Онкологические заболевания
	Вторичные иммунодефицитные состояния
Активация антитрансплантационного иммунитета, криз отторжения донорских органов у реципиентов	СПИД
	Тяжелые вирусные инфекции
Иммунный ответ на тимусзависимые антигены в остром периоде первичной инфекции	Тяжелые ожоги, травмы
	Лечение цитостатиками, иммунодепрессантами, кортикостероидами

## 1.3.3.7.2. Интерлейкин-2 в сыворотке крови

**Содержание ИЛ-2 в сыворотке крови в норме равно 0,5–2,5 Е/мл.**

ИЛ-2 — растворимый гликопротеид. Играет центральную роль в регуляции клеточного иммунитета. Вырабатывается активированными  $CD4^+$  Т-лимфоцитами, трансформированными Т- и В-клетками, лейкоцитарными активированными клетками-киллерами и NK-клетками. ИЛ-2 вызывает антигенную пролиферацию всех субпопуляций Т-клеток. Клетки в покое его не продуцируют. ИЛ-2 действует, связываясь с рецептором к ИЛ-2, который бывает почти исключительно на Т-клетках. ИЛ-2 является фактором роста Т-клеток, которые принимают активное участие в противоопухолевом, противовирусном и антибактериальном ответах. Он позволяет усилить защиту организма от инфекционных заболеваний путем запуска только тех клеток, которые активны в отношении микроорганизмов и вирусов. ИЛ-2 участвует в развитии септического шока, усиливает проницаемость кишечной стенки, тем самым способствуя вовлечению кишечной микрофлоры в септический процесс [Reynolds J. V. et al., 1995]. По мере прогрессирования сепсиса уровень ИЛ-2 в крови снижается, что требует проведения его коррекции. Заболевания и состояния, при которых изменяется содержание ИЛ-2 в сыворотке крови, представлены в табл. 1.39.

Таблица 1.39

**Заболевания и состояния, при которых изменяется содержание ИЛ-2 в сыворотке крови**

Повышение показателя	Снижение показателя
Гиперактивность иммунной системы при аллергических и аутоаллергических заболеваниях	Онкологические заболевания Вторичные иммунодефицитные состояния
Активация антитрансплантационного иммунитета, криз отторжения донорских органов у реципиентов	СПИД Врожденные дефекты иммунной системы (первичные иммунодефицитные состояния)
Иммунный ответ на тимусзависимые антигены при остром периоде первичной инфекции	Тяжелые вирусные инфекции
	Тяжелые ожоги, травмы
	Лечение цитостатиками и иммунодепрессантами Облучение ионизирующей радиацией

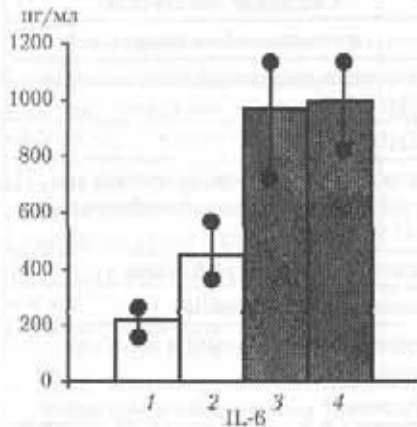
**1.3.3.7.3. Интерлейкин-6 в сыворотке крови**

Содержание ИЛ-6 в сыворотке крови в норме составляет 0–33 Е/мл.

ИЛ-6 имеет ряд других названий: фактор дифференциации В-клеток, цитолитический дифференцирующий фактор Т-клеток, тромбопоэтин и др. ИЛ-6 продуцируется многими типами лимфоидных и нелимфоидных клеток, он постоянно присутствует или возникает в ответ на стимулирование ИЛ-1 и TNF. Основным источником ИЛ-6 являются стимулированные моноциты, фибробласты и эндотелиальные клетки. После стимуляции его могут вырабатывать также макрофаги, Т-клетки, В-клетки и гранулоциты. ИЛ-6 обнаруживается у человека в сыворотке, СМЖ и материнском молоке. Он играет важную роль в защитных механизмах, включая иммунный ответ, острофазовые реакции и гемопоэз [Кетлинский С. А., Калинина Н. М., 1996].

Уровень ИЛ-6 повышается при воспалительных процессах; его определение и мониторинг является более чувствительным тестом, чем С-реактивный белок, особенно на ранних стадиях воспалительного процесса. Определение концентрации ИЛ-6 в сыворотке крови имеет важное значение для оценки тяжести септического процесса (рис. 1.2).

Повышение ИЛ-6 в крови и моче наблюдается у больных гломерулонефритами. Имеется корреляция между уровнем ИЛ-6 в моче и стадией гломерулонефрита. У больных после трансплантации



**Рис. 1.2.** Уровень ИЛ-6 в зависимости от тяжести системного ответа на инфекционное воспаление: 1 — синдром системного воспалительного ответа; 2 — сепсис; 3 — тяжелый сепсис; 4 — септический шок

почки острый пикообразный подъем уровня ИЛ-6 в крови и моче указывает на отторжение почки. Повышенное содержание ИЛ-6 в крови определяется у больных с хронической почечной недостаточностью и при гемодиализе.

Высокие уровни ИЛ-6 в крови отмечаются при болезни Крона, но не при язвенном колите, что имеет важное значение для дифференциальной диагностики этих заболеваний.

При менингитах повышенные значения ИЛ-6 выявляются в СМЖ. Повышенный уровень ИЛ-6 в крови коррелирует с тяжестью множественной миеломы и лейкемии. Подобные изменения

концентрации ИЛ-6 в крови отмечаются при аутоиммунных заболеваниях, саркоме Капоши.

#### 1.3.3.7.4. Интерлейкин-8 в сыворотке крови

Содержание ИЛ-8 в сыворотке крови в норме составляет 146–172 Е/мл.

ИЛ-8 может продуцироваться многими клетками (моноцитами, фибробластами, эндотелиальными клетками, синовиоцитами, хондроцитами, кератиноцитами) в ответ на цитокиновые инициаторы. ИЛ-8 был также выделен из различных опухолевых клеток. Т-лимфоциты реагируют на малые дозы ИЛ-8. Последний стимулирует нейтрофилы к направленной миграции. Он также индуцирует дегрануляцию нейтрофилов [Потапнев М. П., 1996].

При ревматоидном артрите повышается концентрация IL-6 и IL-8 в крови, наиболее высокие цифры отмечаются в период обострения. Цитокины влияют на пролиферацию синовиальных клеток у больных полиартритом. Повышенный уровень IL-8 в крови является маркером гепатоцеллюлярной карциномы. У больных с алкогольным гепатитом уровень IL-8 в крови также повышается. IL-8 играет иммуnoreгуляторную роль в патогенезе воспалительного процесса при заболеваниях кишечника, поэтому этот цитокин может быть использован в качестве маркера воспалительных заболеваний кишечника. Локальная продукция IL-8 в пораженных клубочках участвует в патогенезе гломерулонефрита. Измерение IL-8 в моче может быть полезным для мониторинга гломерулонефрита. Обострение заболевания сопровождается повышением выделения IL-8 с мочой, во время ремиссии, наоборот, его концентрация снижается. При псориазе уровень IL-8 в крови снижен.

#### 1.3.3.7.5. Колонистимулирующий фактор в сыворотке крови

**Содержание КСФ в сыворотке крови в норме составляет 0–4 пг/мл.**

КСФ — пептид, вырабатываемый активированными Т-лимфоцитами, фибробластами и фагоцитами. Усиливает пролиферацию гранулоцитов и макрофагов. Применяется для комплексной оценки иммунного статуса больного. Повышение концентрации КСФ отмечается при гиперактивности иммунной системы при аллергических и аутоаллергических заболеваниях, при активации антитрансплантационного иммунитета, кризе отторжения донорских органов у реципиентов, при иммунном ответе на тимусзависимые антигены в остром периоде первичной инфекции.

#### 1.3.3.7.6. Фибронектин в плазме

**Содержание фибронектина в плазме в норме составляет 200–400 мкг/мл.**

Известны две формы фибронектина — тканевая и циркулирующая. Тканевый фибронектин обеспечивает непроницаемость волокон и соединений клеток, а циркулирующий — вызывает адгезию материалов, подлежащих уничтожению, к макрофагам, эндотелию и другим клеткам.

Практический опыт многих исследователей в последние годы говорит о том, что фибронектин и фибронектинопатия являются ха-

рактерными показателями сепсиса. Являясь поливалентным лигандом, фибронектин способен связываться со многими биологически активными макромолекулами различной химической природы — с нативным и денатурированным коллагеном, фибриногеном и фибрином, гепарином, фактором XII свертывания, внутриклеточным актином, нативной и денатурированной ДНК, а также большинством грамположительных и некоторыми грамотрицательными бактериями. Фибронектин участвует в регуляции клеточной пролиферации, необходим для «узнавания» коллоидов макрофагами, и его содержание в крови может служить показателем функциональной активности ретикулоэндотелиальной системы. У больных с септическим процессом выявляется резкое снижение уровня фибронектина в плазме крови. Возможно, что это снижение связано с тем, что в процессе развития болезни микробные токсины, продукты нарушенного обмена веществ не только способствуют повышенному потреблению фибронектина, но и подавляют его синтез. Нехватка фибронектина, согласно классификации С. Solberg [1972], может быть отнесена к иммунодефицитным состояниям, связанным с дефицитом сывороточных опсоинов. Установлено, что чем тяжелее протекает сепсис, тем значительно падает уровень плазменного фибронектина.

Буквально в последнее время стало широко применяться исследование концентрации фибронектина в слизи шейки матки для диагностики патологии беременности, так как ее повышение почти однозначно указывает на прерывание беременности или преждевременные роды.

#### 1.3.3.8. Неоптерин в сыворотке крови

**Референтные величины содержания неоптерина в сыворотке крови  $5,1 \pm 1,8$  нмоль/л.**

Биосинтез фолиевой кислоты (птероилмоноглутаминовой кислоты) и других птеридинов осуществляется из гуанозинтрифосфата (ГТФ), 4-аминобензоата и глутамата. Сначала по общему синтетическому пути образуются 2-амино-4-гидрокси-6-дигидроптеридинтрифосфат и его дефосфорилированная форма 2-амино-4-гидрокси-6-тригидроксипропилдигидроптеридин-трифосфат (дигидро-неоптерин). ГТФ-циклогидролаза — катализатор этого процесса. Далее, уже по разным путям, образуются другие птеридины. Неопте-

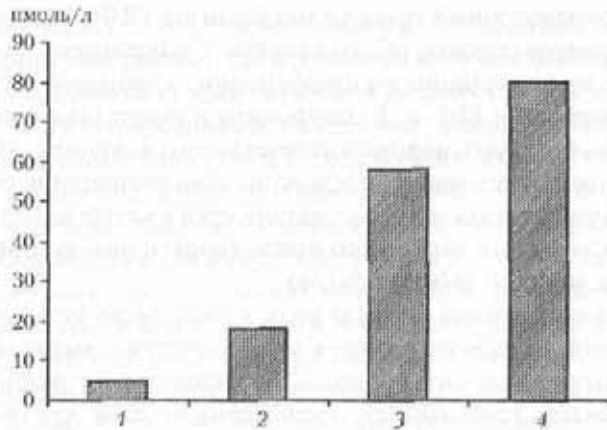
рин — промежуточный продукт метаболизма ГТФ (синтезируется из дигидронеоптерина), образующийся в макрофагах и моноцитах после их стимуляции  $\gamma$ -интерфероном, в меньшей степени —  $\alpha$ -интерфероном и TNF- $\alpha$ . В-лимфоциты и эндотелиальные клетки также способны продуцировать неоптерин под влиянием этих цитокинов. В настоящее время определение концентрации неоптерина в биологических жидкостях рассматривается в качестве маркера активации клеточного иммунного ответа (маркер цитокинзависимой активации моноцитов/макрофагов).

Цитокины играют важную роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний, их гиперпродукция ассоциируется с высокой активностью патологического процесса. Большинству цитокинов свойственна низкая стабильность, а неоптерин — один из стабильных маркеров активации системы иммунитета.

Уровень неоптерина в сыворотке крови является чувствительным лабораторным индикатором активности иммуновоспалительного процесса при ревматоидном артрите, СКВ, гранулематозе Вегенера, болезни Бехчета, системной склеродермии, острой ревматической лихорадке, хроническом миокардите, дилатационной кардиомиопатии, геморрагическом васкулите. В большинстве случаев при перечисленных заболеваниях отмечается корреляция между увеличением уровня неоптерина и активностью патологического процесса. При высокой активности процесса уровень неоптерина в сыворотке крови повышается в 4–5 раз и более.

Заболевания, сопровождающиеся активацией клеточного иммунитета, приводят к повышению содержания неоптерина в крови. Уровень неоптерина в сыворотке крови повышен при травмах, острых инфекциях, кризе отторжения трансплантата; причем его повышение предшествует клиническим проявлениям заболевания и появлению специфических антител в сыворотке крови. Обострение хронических инфекций также приводит к повышению содержания неоптерина. Эффективное лечение заболевания сопровождается снижением уровня неоптерина в крови. Повышение уровня неоптерина в сыворотке крови при различных инфекционных заболеваниях отражено на рис. 1.3.

Повышение уровня неоптерина в сыворотке крови выявляют при СПИДе и злокачественных новообразованиях, при этом чем выше концентрация неоптерина, тем хуже прогноз.



**Рис. 1.3.** Уровень неоптерина в сыворотке крови при различных инфекционных заболеваниях:

1 — здоровые; 2 — острый вирусный гепатит; 3 — цитомегаловирусный мононуклеоз; 4 — инфекционный мононуклеоз, обусловленный вирусом Эпштейна—Барр

Исследование неоптерина в СМЖ при ВИЧ-инфекции имеет важное значение для диагностики СПИД-деменции.

Неврологические осложнения ВИЧ-инфекции могут быть вызваны самим ретровирусом или обусловлены дисфункцией иммунной системы. Речь идет не только об известных оппортунистических инфекциях, поражающих мозг (токсоплазмоз, первичная лимфома ЦНС, прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия и криптококковый менингит), но также и о комплексной СПИД-деменции, вызываемой самим ВИЧ, и поражении периферической нервной системы, например генерализованной нейропатии.

Неоптерин в СМЖ — маркер развития СПИД-деменции и других неврологических осложнений у больных с ВИЧ-инфекцией, а также рассеянного склероза. СПИД-деменция развивается на поздних стадиях инфекции ВИЧ-1 на фоне выраженной иммуносупрессии. По проспективным данным многоцентрового когортного исследования, после 5-летнего периода инфицированности заболеваемость СПИД-деменцией составляет 7,3 случая на 100 больных, если количество клеток CD4 не превышает 100, 3 случая — если

число клеток CD4 составляет 101–200, и 0,5 случая — если число клеток CD4 составляет 500 и более. Наличие СПИД-деменции предвещает скорый летальный исход. Уже на ранних стадиях системной ВИЧ-инфекции головной мозг, мягкие оболочки подвергаются воздействию вируса, что сопровождается иммунным ответом в пределах головного мозга. Вирусная агрессия и иммунные реакции являются метастатическими, так как представляют собой транслокацию инфицированных вирусом клеток организма и иммунных клеток из системной циркуляции в мозг. В дальнейшем развитие патологического процесса определяется двумя факторами: 1) эффективностью иммунной защиты, т. е. степенью подавления репликации вируса в пределах головного мозга (СПИД-деменция и ВИЧ-энцефалит развиваются далеко не у всех больных с высокой вирусемией); 2) появлением тропных к макрофагам генетических вариантов вируса (хорошая репликация в макрофагах и родственных клетках и плохая — в клетках лимфоцитарного ряда). Возможно, в развитии поражений мозга играет роль и специфическая адаптация вируса к макрофагам и микроглии мозга. Продуктивное воспаление захватывает в основном макрофаги и микроглию, приводя к энцефалиту. ВИЧ поражает также астроциты (при этом выделяется продукт регуляторного гена *nef*, а не продукт структурного гена или новое поколение вирусов), эндотелиальные клетки и нейроны. Предполагают, что инфицирование макрофагов и микроглии включает иммунопатологические процессы, так или иначе обуславливающие нейротоксический эффект. Токсичностью обладают наружный гликопротеин ВИЧ gp120, продукты регуляторных генов *nef* и *tat*. Иммунные реакции на вирус (особенно неэффективные) могут тоже активировать продукцию нейротоксинов. Оба вида токсичности — вирусная и иммуногенная — постоянно активируются цитокинами, которые в свою очередь тоже включают различные нейродегенеративные механизмы (N-метил-D-аспартат-рецепторы, продукцию окиси азота и др.). При СПИД-деменции практически всегда выявляют атрофию мозга и диффузное/мелкоочаговое поражение белого вещества и базальных ядер, в СМЖ выявляют повышенную концентрацию неоптерина. Уровень повышения неоптерина тесно коррелирует с неблагоприятным исходом заболевания.

При СПИД-деменции в СМЖ увеличен не только уровень неоптерина, но и  $\beta_2$ -МГ. Повышенная концентрация этих маркеров в



ликворе не патогномична для СПИД-деменции, поскольку наблюдается и при оппортунистических инфекциях, и при первичной лимфоме, но в отсутствие этих состояний считается признаком СПИД-деменции.

#### 1.3.4. Оценка результатов комплексного исследования иммунного статуса

Основным принципом оценки результатов комплексного исследования иммунного статуса у больного является количественная и функциональная оценка всех его звеньев — антигеннеспецифических и антигенспецифических факторов — и их сравнение с нормальными величинами. Под нормальным состоянием иммунного статуса подразумеваются показатели иммунной системы, определяемые у практически здоровых лиц разных возрастных групп. Определение параметров иммунной системы при различных патологических состояниях дает возможность разделить последние на три главные группы [Федосеева В. Н. и др., 1993]:

- 1) без существенных изменений в иммунном статусе;
- 2) с недостаточностью иммунной системы (иммунодефициты);
- 3) с гиперактивацией иммунокомпетентных клеток (аутоиммунитет, аллергия).

Используя методы клинической иммунологии, необходимо выявить у больного уровень нарушений, а затем осуществлять контроль за восстановлением иммунного статуса организма в процессе лечения. Наиболее часто встречающимся нарушением состояния иммунной системы у человека являются иммунодефициты. Термином «иммунодефициты» обозначают нарушения нормального иммунологического статуса, обусловленные дефектом одного или нескольких механизмов иммунного ответа. Различают первичные и вторичные иммунодефициты. В качестве первичных выделены такие состояния, при которых нарушение иммунных механизмов (продукция иммуноглобулинов и/или Т-лимфоцитов) часто связано с генетическим блоком. В зависимости от уровня нарушений и локализации дефекта различают преимущественно следующие иммунодефициты: гуморальные, клеточные, иммунодефициты, обусловленные дефектами неспецифической системы резистентности (в частности, системы фагоцитоза), и комбинированные.

Нарушение гуморального иммунитета может проявляться в форме общей гипогаммаглобулинемии как дефекта синтеза иммуноглобулинов, недостаточности антител вследствие общей потери белка (при нефротическом синдроме, экссудативных процессах) и усиления процессов распада иммуноглобулинов. Редко может встречаться селективный дефицит различных иммуноглобулинов. Например, при селективных дефицитах IgG отмечают рецидивирующие инфекции верхних дыхательных путей.

При нарушении Т-звена иммунной системы больные подвергаются особой опасности поражения вирусными и грибковыми инфекциями. Часто первыми признаками иммунодефицита являются кандидоз, осложнения после вакцинации БЦЖ, тяжелые формы инфекций, обусловленных герпесом и возбудителем ветряной оспы. При клеточных формах иммунодефицита обычно выявляется снижение количества и функциональной активности лимфоцитов периферической крови: в одних случаях снижается митогенная активация ФГА, в других — уменьшается выработка лимфоцитов. Содержание В-лимфоцитов может быть несколько увеличено, а Т-лимфоцитов — снижено. Однако нередко количество Т-лимфоцитов и соотношение их популяций может находиться в пределах нормы, поэтому в диагностике клеточной иммунологической недостаточности приоритет должен отдаваться методам исследования, оценивающим функциональную полноценность лимфоцитов.

Среди первичных иммунодефицитов наиболее часто встречаются комбинированные формы. При тяжелом комбинированном иммунодефиците резко снижается активность естественных киллеров.

Вторичные иммунодефициты характеризуются приобретенным дефектом иммунной системы, выражающимся в неспособности организма осуществлять реакции клеточного и/или гуморального иммунитета. Дефекты иммунной системы при вторичных иммунодефицитах могут возникать в различных звеньях: Т- и В-лимфоцитарном, макрофагальном, гранулоцитарном, комплементарном. Общий механизм возникновения вторичных иммунодефицитов заключается в нарушении естественно существующих идиотип-антиидиотип-взаимодействий между рецепторами клеток и циркулирующими иммуноглобулинами под влиянием различных стрессовых и патогенных агентов и воздействий.

До сих пор не разработана классификация первичных и вторичных иммунодефицитов, удовлетворяющая требованиям клиницистов. Существующая Международная классификация болезней (10-е издание, 1992 г.) выделяет следующие основные группы первичных иммунодефицитных состояний:

- иммунодефицит с преобладанием дефектов антител;
- комбинированные иммунодефицитные состояния;
- иммунодефицит в сочетании с другими значительными дефектами;
- дефекты в системе комплемента.

Многие заболевания, химиотерапевтические, физические и другие методы лечения, иные воздействия вызывают изменения иммунореактивности. Вторичные иммунодефициты наиболее часто выявляются при инфекциях, СПИДе, при тяжелых ожогах, уремии, злокачественных новообразованиях, при проведении иммуносупрессивной и лучевой терапии. Учитывая особенности патогенеза и локализации основного дефекта в иммунной системе, Д. К. Новиков и В. И. Новикова [1994] предложили приведенную ниже классификацию вторичных иммунодефицитов.

**Классификация вторичных иммунодефицитов (основные группы):**

1. Комбинированные иммунодефициты.
2. Т-клеточные дефициты.
3. Преимущественно В-клеточные дефициты.
4. Дефекты естественных киллеров.
5. Дефициты макрофагов и гранулоцитов.
6. Дефициты системы комплемента.
7. Дефициты системы тромбоцитов.

Изменение основных показателей иммунного статуса при различных заболеваниях, вызывающих вторичные иммунодефициты, представлено в табл. 1.40.

Изменения иммунореактивности, временно возникающие при различных воздействиях и заболеваниях и спонтанно исчезающие при устранении индуцирующих факторов, не являются иммунодефицитами. Их следует считать временной иммуномодуляцией. Однако граница между вторичными иммунодефицитами и временным нарушением иммунореактивности относительна и условна.

Таблица 1.40

## Характеристика вторичных иммунодефицитов

Показатель	Индуктор			
	Бактериальные инфекции	Стресс	Неспецифические хронические заболевания	Лекарственные препараты, облучение
Абсолютное количество лимфоцитов	↑, реже ↓	↓	↑ или ↓	↓
Количество CD3	↓	↓	↓	↓
Количество CD4	↑ или ↓	↓	↑ или ↓	↓
Количество CD8	↑	↑	↑	↑
Количество CD20	↑	↑ или ↓	↑ или ↓	↑ или ↓
Иммуноглобулины	Дисиммуноглобулинемия	Дисиммуноглобулинемия	Дисиммуноглобулинемия	Дисиммуноглобулинемия
Фагоцитоз	↑ или ↓	↑	↑ или ↓	↓

Опыт применения иммунологических методов в клинической практике позволяет сформулировать некоторые правила оценки иммунограмм клиницистом [Лебедев К. А., Понякина И. Д., 1990].

1. Комплексный анализ иммунограммы более информативен, чем оценка каждого показателя в отдельности.
2. Полноценный анализ иммунограммы можно проводить лишь в комплексе с оценкой клинической картины у данного больного.
3. Реальную информацию в иммунограмме несут сильные сдвиги показателей, слабые сдвиги лишь позволяют повысить уверенность в правильности сделанного заключения.
4. Анализ иммунограммы в динамике всегда более информативен, как в диагностическом, так и в прогностическом отношении, чем однократно полученная иммунограмма.
5. В подавляющем большинстве случаев анализ иммунограммы дает возможность делать ориентировочные, а не безусловные выводы диагностического и прогностического характера.
6. Первостепенную практическую значимость в иммунограмме имеют соотношения различных популяций и субпопу-

лящий иммунокомпетентных клеток, а не их абсолютные значения.

7. Несоответствие сдвигов показателей иммунограммы клинической картине течения заболевания свидетельствует о тяжелом, неблагоприятном развитии процесса.

Для облегчения комплексной оценки иммунного статуса приводим алгоритмы оценки каждого звена иммунитета (схемы 1.2–1.6). При оценке клеточного звена иммунитета, помимо отношения Т-хелперы/Т-супрессоры (Т<sub>h</sub>/Т<sub>s</sub>), важное значение имеет отношение общего количества лейкоцитов в крови к общему количеству Т-лимфоцитов — лейкоцитарно-Т-лимфоцитарный индекс, который в норме составляет 4–7.

Несмотря на широко распространенное в настоящее время утверждение о том, что состояние иммунной системы может быть во многих случаях решающим фактором при развитии многообразной патологии у человека, до сих пор вопрос об оценке иммунного статуса остается дискуссионным. Подходы к оценке иммунного статуса можно разделить на 2 большие категории:

- подходы с использованием универсального (одиночного) способа оценки;
- подходы, связанные с рекомендацией различных наборов методов и тестов, наиболее полно отражающих состояние иммунной системы.

И те и другие имеют свои плюсы и минусы. С одной стороны, первый тип подходов с определением универсального показателя состояния иммунной системы имеет несомненное преимущество, так как при этом отпадает необходимость конструирования сложных и порой громоздких схем для интерпретации получаемых результатов. Вместе с тем на основании интегрального универсального показателя можно выявить только грубые изменения в иммунной системе, тогда как пограничные состояния остаются за пределами его детекции. Второй тип подходов с определением многочисленных параметров иммунного статуса, наоборот, дает более полное представление о состоянии иммунной системы и выявляет тонкие механизмы ее поражения, однако общая интерпретация получаемых данных бывает весьма затруднительной, а порой и совсем неопределенной.

Предложенный в 1990 г. Л. В. Ковальчуком и А. Н. Чердеевым подход к оценке иммунной системы человека, базирующийся на

Избыток с жизненно, хроническими инфекционными процессами бактериальной, вирусной, аутоиммунной природы, состояния после тяжелых оперативных вмешательств, ожогов

Системы иммунодефицита

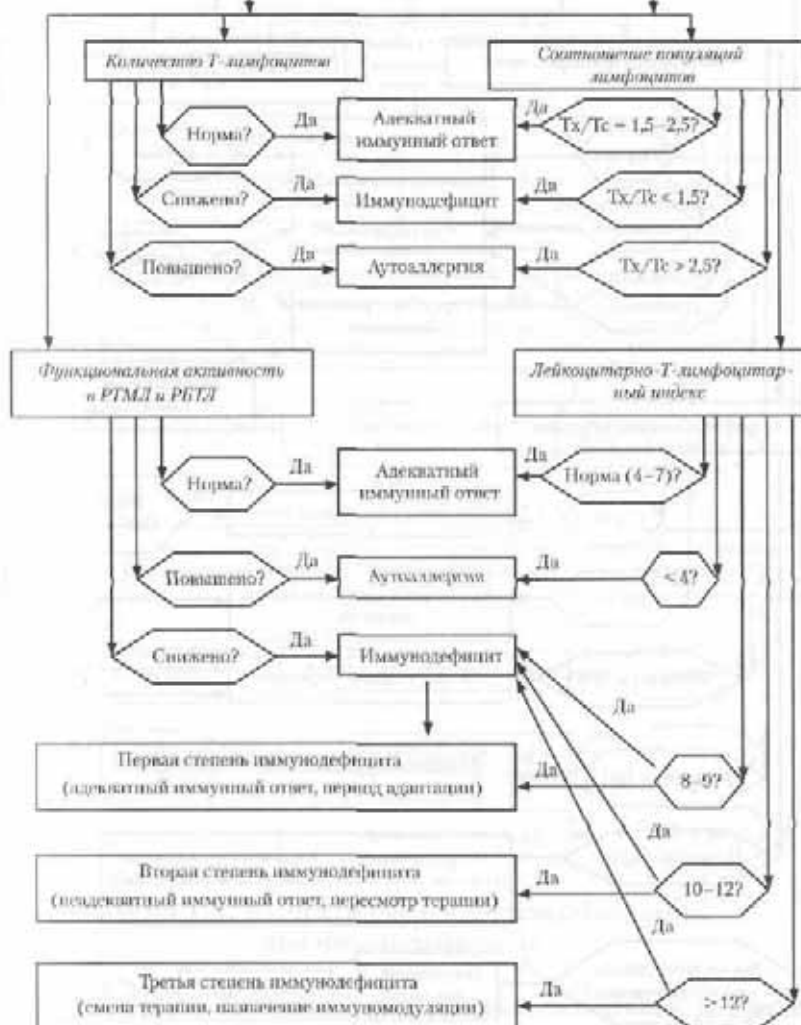
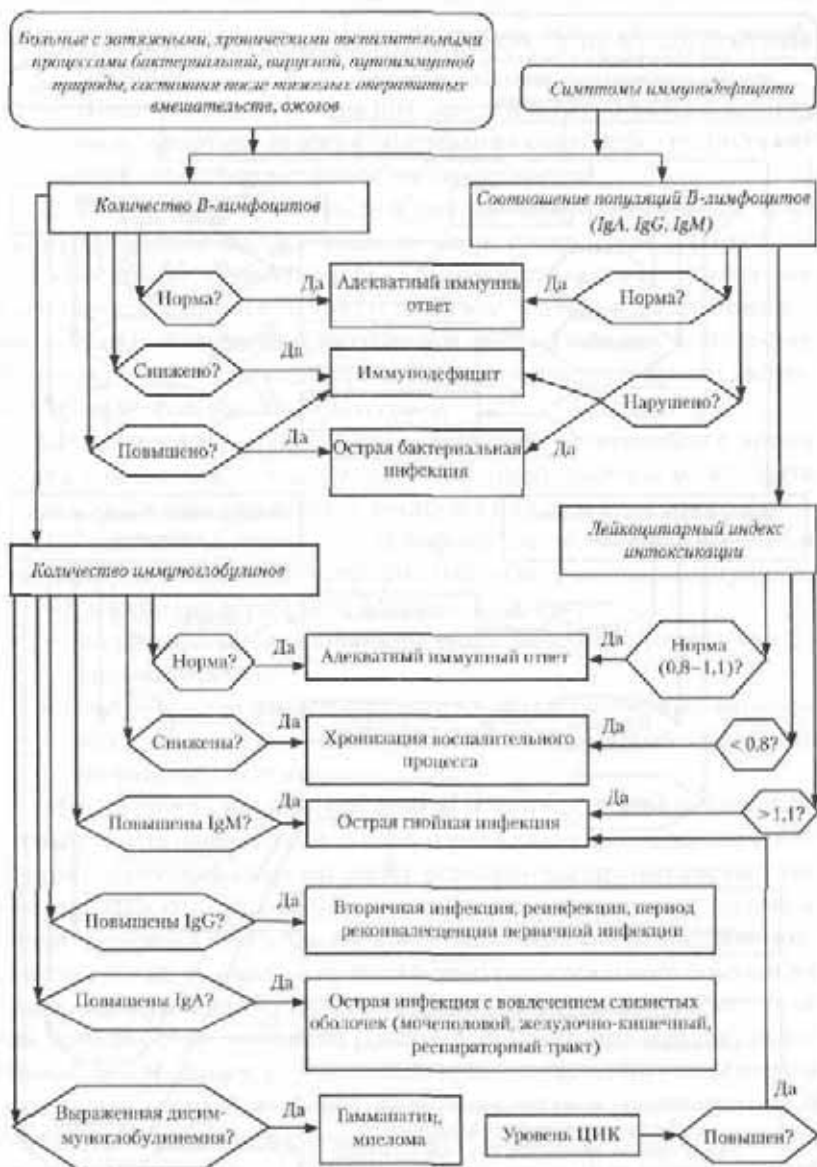


Схема 1.2. Алгоритм оценки клеточного звена иммунитета при иммунодефицитах



**Схема 1.3.** Алгоритм оценки гуморального звена иммунитета при иммунодефицитах

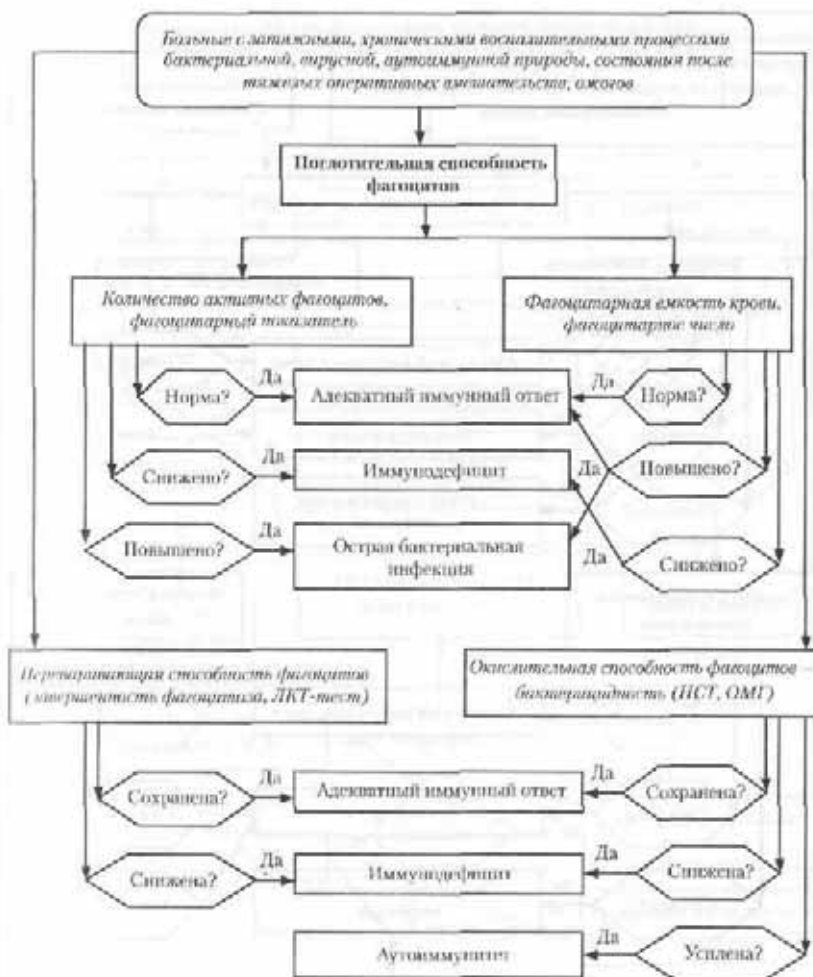


Схема 1.4. Алгоритм оценки системы фагоцитоза при иммунодефицитах

патогенетическом принципе, получает свое дальнейшее развитие. Сущность этого подхода заключается в использовании методических приемов, позволяющих дать оценку основным стадиям иммунного ответа — распознавания, активации, пролиферации и дифференцировки. Помимо традиционных тестов (первого уровня), в основу



1. *Оценка стадии распознавания антигена:* изучение уровня Т-клеточного антигенраспознающего рецептора на лимфоцитах, процесса представления антигена, числа адгезивных молекул (интегрины, адгезины и др.) на клетках, смешанной культуры лимфоцитов, генного анализа аллотипов HLA.
2. *Оценка стадии активации лимфоцитов:* фенотипирование маркеров активации лимфоцитов (CD25, CD23, CD69, HLA-DR) при стимуляции ФГА, выявление вторичных мессенджеров (цАМФ, цГМФ, цАТФ), изучение ответности клеток иммунной системы на цитокины.
3. *Оценка стадии пролиферации лимфоцитов:* изучение ответа лимфоцитов на митогены, специфические антигены, факторы роста.
4. *Оценка стадии дифференциации лимфоцитов* (эффекторной функции): изучение продукции иммуноглобулинов, цитотоксической функции Т-лимфоцитов, естественных киллеров, продукции цитокинов.
5. *Оценка регуляции иммунного ответа:* оценка хелперных и супрессорных функций лимфоидных клеток, анализ функциональных свойств Т-хелперов 1-го и 2-го типов и продуцируемых ими цитокинов.

Главное достоинство патогенетического принципа обследования иммунной системы заключается в упорядочивании тестов, оценивающих состояние важных и взаимосвязанных функций иммунокомпетентных клеток. Выделение подобных этапов функционирования иммунных клеток открывает перед врачом новые подходы для понимания роли отдельных клеточных элементов иммунной системы человека при многих иммунных нарушениях.

В настоящее время в литературе накоплен огромный фактический материал по механизмам активации, пролиферации и дифференцировке лимфоцитов [Чередеев А. Н., 1997]. Известны тонкие мембранные и внутриклеточные перестройки при этих процессах. Становится ясным, что врожденный или индуцированный разными факторами блок одного из названных ключевых этапов функционирования иммунокомпетентных клеток ведет к несостоятельности их полноценного функционирования. Данные последних лет свидетельствуют о качественно новой интерпретации тестов оценки иммунной системы, связанных с определением состояния актива-

ции лимфоцитов. Сегодня исследователи практически единодушны в том, что в зависимости от ряда внешних и внутренних факторов процесс активации иммунокомпетентных клеток может иметь по крайней мере два исключаящих друг друга исхода, и в связи с этим выдвигается концепция позитивных и негативных последствий активации.

После активации иммунокомпетентные клетки проходят типичный путь своего развития, т. е. начинают пролиферировать и после этого дифференцируются в зрелые клетки, обеспечивающие эффекторные функции иммунной системы (позитивный процесс). Или тот же самый стимул, направленный на ту же популяцию клеток, но осуществленный в других условиях, может привести к совершенно противоположному эффекту — к запрограммированной гибели активируемой клетки, т. е. к феномену *апоптоза* (негативный процесс).

Эти процессы наиболее существенны для Т-лимфоцитов. Именно поэтому на сегодняшний день при оценке состояния активации лимфоцитов правомерным является определение типа активации, с которым имеет дело исследователь, — позитивный или негативный. Данные факты и составляют суть методологического подхода в оценке процессов, связанных с активацией иммунокомпетентной клетки.

Позитивная активация лимфоцитов — сложный и многогранный процесс, реализуемый через биохимические события в мембране и в цитоплазме клетки. На конечном этапе активации Т-лимфоцитов реализуются эффекторные функции: секреция цитокинов, цитотоксичность и др. Но прежде клетки проходят этап пролиферации, необходимый для накопления пула себе подобных клеток. Фазы активации, пролиферации и дифференцировки имеют свои особенности и могут быть оценены по следующим параметрам: повышение экспрессии CD25-антигенов и HLA-DR в ранней стадии активации, стимуляция роста активированных В-клеток в стадии пролиферации, индукция синтеза иммуноглобулинов (в частности, IgE) в стадии дифференцировки.

В противовес классическим путям позитивной активации зрелые Т-клетки, стимулированные через Т-клеточные рецепторы, могут подвергнуться и клеточной гибели (негативная активация), при которой решающую роль играет взаимодействие пары рецеп-

тор-лиганд Fas/FasL. Активированные Т-лимфоциты экспрессируют как тот, так и другой рецептор и становятся чувствительными к клеточной гибели, являющейся следствием связывания Fas-рецептора. Такие клетки могут поставлять сигналы бедствия от одной клетки другой — процесс, получивший название «братоубийство». Поэтому наряду с методами, характеризующими процессы позитивной активации, назрела необходимость определения маркеров, по которым можно количественно охарактеризовать число клеток-«самоубийц», подвергающихся апоптозу. Одним из таких маркеров является антиген Fas (CD95, АПО-1) и лиганд FasL (CD95L). Fas относится к рецепторам фактора некроза опухолей. Он проводит апоптотический сигнал внутрь клетки. События апоптоза реализуются после соединения Fas-антигена с FasL-лигандом (антителом). У клеток, подвергающихся апоптозу, происходят изменения в характере гликозилирования белков поверхностных мембран. Одним из маркеров таких изменений считается появление Lewis Y-антигена, который обнаруживается иммуногистохимическими методами. Как в нормальных, так и в опухолевых клетках показана хорошая корреляция между степенью апоптоза и величиной экспрессии антигена Lewis Y.

Идентификация этих маркеров играет важную роль для заключения о направленности развития клеток иммунной системы, механизмах и течении иммунопатологии человека. Например, многие приобретенные иммунодефициты могут быть связаны с эффектом негативной активации. Повышенный апоптоз Т-лимфоцитов рассматривается как один из ключевых механизмов иммунодефицита при ВИЧ-инфекции. Существует также концепция интерлейкин-зависимых иммунодефицитов, согласно которой в основе этих дефицитов лежат нарушения механизмов регуляции клеточной активации и пролиферации в зависимости от продукции и рецепции цитокинов IL-1 и IL-2. Экспериментальное обоснование получает и предположение о том, что в основе многих лимфопролиферативных и аутоиммунных заболеваний лежит процесс нарушения клеточного апоптоза по типу блока негативных процессов активации, в результате чего возникает неуправляемая клеточная пролиферация, в том числе и «запрещенных» клонов лимфоцитов.

Таким образом, патогенетический подход к оценке иммунного статуса позволяет по-новому осмыслить природу возникновения

иммунопатологии. Распространенное утверждение о том, что иммунодефициты — это заболевания, связанные с недостаточностью функционирования иммунной системы, а аутоиммунные заболевания — патология с гиперфункцией иммунной системы, на сегодняшний день может оказаться лишь поверхностным. На самом деле и иммунодефицитные, и аутоиммунные заболевания являются по своей сути процессами чрезмерной активации иммунокомпетентных клеток, однако при иммунодефицитах их активация заканчивается гибелью, а при аутоиммунных — активация приводит к накоплению аутореактивных клонов. Поэтому оценка иммунного статуса должна включать максимальный перечень тестов и показателей, характеризующих основные этапы активации, пролиферации и дифференцировки лимфоцитов, системы комплемента и фагоцитоза.

#### 1.4. ИССЛЕДОВАНИЕ ГЛАВНОГО КОМПЛЕКСА ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ (HLA-ТИПИРОВАНИЕ)

Система антигенов лейкоцитов человека состоит из сложного набора генов и их молекулярных продуктов (белков), играющих важную роль в регуляции иммунитета, при трансплантации органов и трансфузии крови. Вся эта система антигенов кодируется генами главного комплекса гистосовместимости — Human Leucocyte Antigens (HLA), локализованного на коротком плече 6-й хромосомы. Эти гены отвечают за распознавание своих и чужих клеток, а также иммунные ответы на антигенные стимулы и координацию клеточного и гуморального иммунитета. В соответствии с расположением комплекса HLA в хромосоме 6 различают следующие локусы: D/DR, B, C, A. Сравнительно недавно обнаружены новые локусы — G, E, H, F, биологическая роль которых активно изучается.

Белковые продукты генов HLA представляют собой молекулы гликопротеинов, состоящие из двух различных пептидных цепей, которые находятся на поверхности клеточной мембраны. HLA разделяют на три класса в соответствии с биохимической структурой. Антигены, относящиеся к I классу, находятся на поверхности тромбоцитов и большинства ядросодержащих клеток организма, включая лимфоциты, гранулоциты, моноциты и клетки солидных тканей. HLA отсутствуют на поверхности зрелых эритроцитов, в

отличие от ядросодержащих незрелых клеток эритроидного ряда. Антигены II класса распространены меньше; постоянно они присутствуют на В-лимфоцитах и на клетках моноцитарного/макрофагального ряда, а после стимуляции — на Т-лимфоцитах и других клетках. Антигены III класса кодируют компоненты комплемента (C2, C4a, C4b, Bf), а также синтез изоэнзимов ряда ферментов (фосфофруктомутазы, гликоксилазы, пепсиногена-5, 21-гидроксилазы).

Антигены I класса (HLA-A, -B, -C) имеют молекулярную массу около 56 000 Да и состоят из двух цепей: гликопротеиновая тяжелая цепь  $\alpha$  и легкая цепь, представленная молекулой  $\beta_2$ -МГ. Цепь  $\alpha$  пронизывает клеточную мембрану, в то время как  $\beta_2$ -МГ непосредственно не связан с мембраной, а образует нековалентные связи с  $\alpha$ -цепью. Экстрацеллюлярная часть  $\alpha$ -цепи состоит из трех доменов, из которых два наиболее удаленных содержат переменные участки, структура которых определяется разными аллелями I класса.

Антигены I класса можно обнаружить на тромбоцитах и практически на всех ядросодержащих клетках организма. Лишь очень незначительное число молекул этого класса остается на поверхности зрелых эритроцитов, причем некоторые аллотипы экспрессируются лучше других.

Антигены II класса (HLA-DR, -DQ и -DP) имеют молекулярную массу около 63 000 Да и состоят из двух различных гликопротеиновых цепей —  $\alpha$  и  $\beta$ , каждая из которых пронизывает клеточную мембрану. Части обеих цепей, находящиеся на внешней стороне клеточной мембраны, состоят из двух доменов, более дистальный из которых содержит переменные участки, кодируемые аллелями II класса. Молекулы II класса можно обнаружить на В-лимфоцитах, активированных Т-лимфоцитах, моноцитах, макрофагах, дендритных клетках, ранних гемопоэтических, эндотелиальных и некоторых опухолевых клетках.

HLA обозначается цифрой, которая в названии следует за буквой, означающей серию антигена (например, HLA-A1, HLA-B8). На ранних этапах исследования HLA-системы к названию не полностью изученных антигенов добавлялся префикс w (например, HLA-Dw7), и уже после его окончательной идентификации Номенклатурный комитет ВОЗ удалил этот символ из обозначения. Префикс w более не употребляется, но сохранен только для: 1) отличия антигенов

Bw4 и Bw6 от других продуктов аллелей локуса В; 2) антигенов локуса С, чтобы не путать их с компонентами комплемента; 3) Dw- и DP-антигенов, которые были определены в смешанной культуре лимфоцитов и праймированных лимфоцитах. Числа в обозначениях HLA-A и -B располагаются не по порядку, поскольку они часто присваивались, еще когда не было известно, что продукты, предположительно одного гена, могут кодироваться на самом деле двумя генами локусами.

Белки, кодируемые HLA-системой, играют решающую роль во взаимодействиях на меж- и внутриклеточном уровне, лежащих в основе иммунного ответа. Молекулы HLA II класса участвуют на афферентном этапе иммунного ответа, связанного с распознаванием чужеродных антигенов. Чужеродные белки поглощаются макрофагальными АПК и расщепляются на небольшие пептидные фрагменты. Затем эти фрагменты с помощью антигенов II класса доставляются на клеточную поверхность, где происходит их взаимодействие с Т-лимфоцитами (CD4), несущими рецепторы, соответствующие данному пептидному фрагменту.

Молекулы HLA I класса необходимы для эфферентного этапа иммунного ответа, на котором происходит разрушение клеток, несущих чужеродный по отношению к собственному организму антиген. При вирусных инфекциях чужеродные (вирусные) пептиды, находящиеся в клетке, помещаются в пептидсвязывающий участок молекул HLA I класса и в его составе транспортируются на клеточную поверхность для презентации. CD4-лимфоциты, антигенные рецепторы которых соответствуют вирусным пептидным фрагментам, способны распознать их и связываться с инфицированной клеткой. Такое связывание активирует цитотоксические свойства Т-клетки, которая атакует инфицированную клетку и разрушает ее с последующим развитием воспалительной реакции.

Имунологическое распознавание различий в структуре HLA является, возможно, первым этапом в отторжении трансплантированной ткани. По влиянию на длительность приживления трансплантатов солидных органов HLA уступают лишь антигенам системы крови АВ0, а при трансплантации костного мозга они имеют первостепенное значение. HLA и антитела к ним играют важную роль при таких посттрансфузионных осложнениях, как иммунозависимая резистентность тромбоцитов, лихорадочная негемолити-

ческая трансфузионная реакция, связанное с переливанием острое поражение легких и в реакциях «трансплантат против хозяина».

Типирование HLA проводится в целях изучения предрасположенности к определенным заболеваниям, при дифференциальной диагностике, отборе доноров для трансплантации костного мозга и других органов, определении родства, а также в судебно-медицинской практике.

Установление ассоциативных связей между болезнями и антигенами главного комплекса гистосовместимости позволяет:

- выделить группы повышенного риска развития болезни;
- выявить группы больных с особенностями течения или патогенеза болезни; в этом же плане может проводиться анализ синтропии болезней, выяснение генетических предпосылок сочетания различных форм патологии, ассоциация с антигенами, определяющими устойчивость к заболеваниям;
- проводить дифференциальную диагностику заболеваний;
- определять прогноз;
- выработать оптимальную тактику лечения.

В табл. 1.41 приведены данные о связи между различными заболеваниями и наличием антигенов главного комплекса гистосовместимости. Относительный риск заболевания для лиц с соответствующим генотипом рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{h_p(1-h_c)}{h_c(1-h_p)}$$

где  $h_p$  — частота признака у больных, а  $h_c$  — у лиц контрольной группы.

Таблица 1.41

## Ассоциация болезней человека с HLA

[Йегер Л., 1990; Фролькис А. В., 1995; Петрова М. А., 1997]

Заболевание	HLA	Частота, %		Относительный риск, %
		Контрольная группа	Больные	
<i>Ревматология</i>				
Анкилозирующий спондилит	B27	5–7	90–93	90–150
Синдром Рейтера	B27	6–9	69–76	32–49,6

Продолжение табл. 1.41

Заболевание	HLA	Частота, %		Относительный риск, %
		Контрольная группа	Больные	
Артриты, обусловленные инфекциями: • <i>Yersinia</i> • <i>Salmonella</i>	B27		58–76	17,59
	B27		60–69	17,57
Артрит псориатический	B13		9–37	4,79
Ревматоидный артрит	Dw4	12–19	48–72	3,9–12,0
	DR4	20–32	70	4,9–9,33
Синдром Бехчета	B5	13	48–86	7,4–16,4
СКВ	B5		11–34	1,83
	B8		19–48	2,11
	Bw15	6–10	21–40	5,1
	DR2	26,4	57,1	3,80
	DR3	22,2	46,4	2,90
Синдром Пужеро—Шегрена	B8		38–58	3,15
	Dw3	26	69–87	19,0
<i>Кардиология</i>				
ИБС	B7	27,8	45,8	2,19
	B14	7,5	14,8	2,14
	B15	11,1	20,4	2,05
	Cw4	18,7	32,8	2,12
Гипертоническая болезнь	B18	10,4	22,6	2,52
	Aw19	12,6	28,3	2,74
<i>Эндокринология</i>				
Инсулинозависимый сахарный диабет	B8	32	52–55	2,1–2,5
	B18		5–59	1,65
	B15	12	18–36	1,89–3,9
	Dw3	26	48–50	2,9–3,8
	Dw4	19	42–49	3,5–3,9
	DR3	20	60	6,10
	DR3/DR4			33



Продолжение табл. 1.41

Заболевание	HLA	Частота, %		Относительный риск, %
		Контрольная группа	Больные	
Гипертиреоз	B8	21	35-49	2,34-3,5
	D3	26	61	4,4
	DR3	20	51	4,16
Подострый тиреоидит (де Кервена)	Bw35	13	63-73	16,81
	Dw1		33	2,1
Болезнь Аддисона	B8		20-80	3,88-6,4
	Dw3	26	70-76	8,8-10,5
Синдром Иценко—Кушинга	A1		49	2,45
<i>Гастроэнтерология</i>				
Пернициозная анемия	B7	19	26-52	1,7-3,1
	DR5	6	25	5,20
Атрофический гастрит	B7		37	2,55
Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки	A2	48,1	61,3	1,7
	A10	20,6	63,3	6,65
	B14	4,0	10,3	2,76
	B15	6,6	24,4	4,56
	B40	9,72	23,3	2,82
Хронический активный гепатит (аутоиммунный)	B8	16	37-68	2,8-4,1
	DR4	24	71	7,75
Носители антигена HBs	Bw41		12	11,16
	B15		10-19	0,29
<i>Дерматология</i>				
Псориаз	Bw17	6-8	22-36	3,8-6,4
	B13	3-5	15-27	4,2-5,3
	Bw16	5	15	2,9
Герпетиформный дерматит	B8	27-29	62-63	4,0-4,6
	DR3	19	80	16,6
Склеродермия	B7	24	35	1,7
Пузырчатка	A10			3,1
Атопический дерматит	B13	6,86	21,28	3,67
	B27	9,94	25,53	3,11

Окончание табл. 1.41

Заболевание	HLA	Частота, %		Относительный риск, %
		Контрольная группа	Больные	
Экзема	A10/B13	0,88	8,51	10,48
	A10	19,64	36,67	2,37
	B27	9,94	26,67	3,29
Крапивница и отек Квинке	B13	6,86	21,21	3,65
	B5,8	1,42	12,12	9,57
	B5,35	0,71	6,06	9,02
<i>Неврология</i>				
Рассеянный склероз	A3	25	36–37	2,7–2,8
	B7	25–33	36–42	1,4–2,0
	Dw2	16–26	60–70	4,3–12,2
	DR2	35	51,2	1,95
	DR3	20	32,5	1,93
Миастения	B8	21–24	52–57	3,4–5,0
	A1	20–25	23–56	3,8
	DR3	26	50	2,5
<i>Пульмонология</i>				
Бронхиальная астма (заболевание в возрасте 19–30 лет)	B21	4,62	12,5	2,95
	B22	9,94	19,64	2,22
	B27	12,31	37,5	4,27
	B35	0,11	5,36	51,4
	B27/35	0,47	7,14	16,2
<i>Прочие заболевания</i>				
Вазомоторный ринит	A3	26,98	52,38	2,98
	B17	7,57	28,57	4,88
	A3/10	2,72	23,83	11,18
	B7/17	0,47	9,52	22,28
Полнозносный риносинусит	A1	19,76	35,29	2,21
	B8	14,91	32,35	2,73
	B35	12,31	29,41	2,97
	B8/35	1,53	8,82	6,22
	A1/B35	2,39	14,71	7,04

Относительный риск показывает величину ассоциации заболевания с определенным антигеном(ами) системы HLA (дает представление о том, во сколько раз выше риск возникновения заболевания при наличии антигена по сравнению с его отсутствием). Чем больше этот показатель у пациента, тем выше ассоциативная связь с заболеванием.

Определение антигенов главного комплекса гистосовместимости позволяет выявить степень индивидуальной предрасположенности человека к определенному заболеванию, а в ряде случаев — использовать результаты исследований для дифференциальной диагностики, оценки прогноза и выбора тактики лечения. Например, выявление HLA-B27 используют в дифференциальной диагностике аутоиммунных болезней. Его обнаруживают у 90–93 % белых больных анкилозирующим спондилитом и синдромом Рейтера. У здоровых представителей этой расы HLA-B27 встречается всего в 5–7 % случаев. HLA-B27 часто обнаруживают при ювенильном ревматоидном артрите, псориазическом артрите, хронических воспалительных заболеваниях кишечника, протекающих с сакроилитом и спондилитом, при увеите и реактивном артрите, вызванном бактериями рода *Yersinia*, *Chlamydia*, *Salmonella*, *Shigella*. Определение HLA-B27 проводят в следующих случаях:

- 1) при необходимости исключить анкилозирующий спондилит у больного, родственники которого страдают этим заболеванием;
- 2) при дифференциальной диагностике неполной формы синдрома Рейтера (без уретрита и увеита) с гонококковым артритом;
- 3) для дифференциальной диагностики синдрома Рейтера, сопровождающегося тяжелым артритом, с ревматоидным артритом;
- 4) при обследовании больных ювенильным ревматоидным артритом.

Если HLA-B27 не обнаружен, анкилозирующий спондилит и синдром Рейтера маловероятны, хотя полностью исключить эти заболевания нельзя.

У носителей HLA-DR4 ревматоидный артрит чаще сопровождается тяжелым поражением суставов и внесуставными проявлениями и имеет менее благоприятный прогноз, чем у остальных больных

ревматоидным артритом. При выявлении антигена HLA-DR4 у больного ревматоидным артритом как можно раньше начинают лечение средствами, замедляющими его прогрессирование (хлорохин, метотрексат, азотиоприн и др.).

Методы выявления HLA можно разделить на три группы: серологические, цитологические и анализа ДНК.

Стандартным методом для определения HLA-A, -B, -C, -DR и -DQ является микролимфоцитотоксический тест. Для тестирования используют лимфоциты, так как эти клетки сравнительно просто получить из обработанной антикоагулянтом периферической крови и, в отличие от гранулоцитов, они обеспечивают воспроизводимость результатов. Можно использовать лимфоциты селезенки и лимфатических узлов. Сыворотку для HLA-типирования обычно получают от неоднократно рожавших женщин, которые во время беременности подвергались контакту с фетальными клетками, несущими HLA-детерминанты отца. Иногда используют моноклональные мышиные антисыворотки.

HLA-сыворотки известной специфичности помещают в лунки микропланшета. В каждую лунку добавляют суспензию лимфоцитов ( $1-2 \times 10^6$  клеток/мл). Если лимфоциты несут антигены, соответствующие антителам, присутствующим в сыворотке, то происходит их взаимодействие. Затем добавляют комплемент кролика, и при достаточном количестве антител, связанных с мембраной лимфоцитов, активируется каскад комплемента, а образующийся мембраноатакующий комплекс приводит к лимфоцитотоксичности. Определить разрушение клеточной мембраны можно добавлением красителя: красители не проникают в клетки, не связавшиеся с антителами и компонентами комплемента и имеющие неповрежденные мембраны, но способны проникать в поврежденные клетки. Это устанавливают с помощью фазово-контрастной микроскопии. При наличии соответствующего оборудования можно использовать и флуоресцирующие прижизненные красители.

Для правильной интерпретации серологических реакций необходимо параллельное проведение контрольных исследований с сыворотками известной активности. Кроме того, заключение об определении конкретного антигена может быть сделано только на основании результатов исследований с несколькими антисыворотками, поскольку не все антисыворотки обладают достаточной

моноспецифической надежностью, чтобы использовать их по отдельности. Исключительное разнообразие системы HLA, неравномерное распределение антигенов среди различных расовых групп, ненадежность биологической антисыворотки и тестируемых клеток, а также сложности, связанные с явлениями расщепления антигенов, перекрестного реагирования, — все это создает трудности клинической оценки результатов HLA-типирования.

Микролимфоцитотоксическая проба может быть использована для исследования образцов сыворотки с клетками-мишенями. Эта проба является рутинным исследованием для определения HLA-перекрестного взаимодействия между сывороткой будущего реципиента с нефракционированными лимфоцитами возможного донора. Для увеличения чувствительности применяется один из вариантов микролимфоцитотоксической пробы, в котором используют антиглобулиновый реагент.

Степень HLA-аллоиммунизации может быть установлена титрованием сыворотки пациента с панелью из 30–60 или более различных клеток-мишеней. Процент клеток панели, с которыми провзаимодействовали цитотоксические антитела реципиента, называют уровнем панельреагирующих антител. Определение уровня аллоиммунизации дает полезную информацию при изучении лихорадочных негемолитических посттрансфузионных реакций, рефрактерности тромбоцитов, а также при подготовке к трансплантации пациентов, находящихся в ожидании органного трупного трансплантата. Такой скрининг HLA-антител не просто выявляет их присутствие, но и определяет специфичность.

Среди цитологических методов в клинической практике применяют метод смешанной культуры лимфоцитов, или смешанной реакции лимфоцитов. Данный метод используют для отбора живых доноров костного мозга и почек. Кроме того, он помогает определить различия в строении HLA-системы, не выявляемые серологическими методами. Метод смешанной реакции лимфоцитов выявляет, в основном, генетические различия в локусе II класса, кодирующем HLA-DP, -DQ и DR. HLA-DR-аллели, как полагают, играют наиболее важную роль при определении гистосовместимости. При использовании цитологического метода лимфоциты донора и реципиента культивируются вместе, и если они распознают антиген чужой HLA-D-области, то отвечают на это пролиферативной реак-

цией. В конце этапа кокультивирования (5–7 дней) по включению клетками радиоактивного тимидина определяется уровень синтеза ДНК. Чем выше уровень пролиферации, тем более активно клетки будут включать тимидин.

С помощью цитологического метода можно получить важные сведения о различиях в HLA-D-области, однако их интерпретация затруднена. Клетки могут плохо воспринимать или реагировать на стимул, у пациентов с лейкозом клетки способны спонтанно пролиферировать, а у людей с нарушениями иммунной системы — не реагировать на стимул. В связи с этим для определения совместимости при аллогенной трансплантации костного мозга для исследования генов II класса в последнее время все активнее применяют метод ДНК-диагностики (полимеразная цепная реакция — ПЦР).

Типирование, основанное на анализе ДНК, имеет несколько преимуществ по сравнению с серологическими и цитологическими методами: высокая чувствительность и специфичность, небольшие объемы проб, быстрое проведение отдельных этапов исследования (до нескольких часов), отсутствие необходимости использовать живые клетки и наличия антигенов на поверхности клетки. Если серологическими методами можно выявить лишь около 15 различных DR-антигенов, то ДНК-методы позволяют идентифицировать уже более 100 DRB1-аллелей.

## 1.5. ФЕНОТИПИРОВАНИЕ ГЕМОБЛАСТОЗОВ

Значительный прогресс в гематологических исследованиях связан в последние годы с использованием современных иммунологических методов и автоматизированных средств анализа и сортировки клеток периферической крови и костного мозга — проточных цитофлюориметров. Традиционные морфологические и цитохимические исследования клеток субстрата болезни (кровь, костный мозг, лимфатические узлы, селезенка и т. д.) во многих случаях, особенно при лимфопролиферативных заболеваниях, не позволяют выявить все многообразие вариантов среди морфологически сходных форм и установить источник происхождения патологического клона. Эти задачи могут быть решены только путем изучения иммунологической характеристики клеток. Каждой стадии дифференцировки гемопоэтических клеток соответствует свой

набор антигенов, которые, по Международной классификации, называются дифференцировочными и разделяются на кластеры дифференцировки, обозначаемые CD. При неопластических изменениях блок дифференцировки может произойти на любой стадии нормального развития клеток, в результате чего образуется клон патологических клеток, определяющих субстрат болезни и имеющих одинаковую иммунологическую (или фенотипическую) характеристику. Проведя исследования этих маркеров на клетках, можно определить, какой форме и варианту заболевания они соответствуют, т. е. на основе иммунологического фенотипа клеток проводить дифференциальную диагностику, которая наиболее трудна при лимфопролиферативных заболеваниях, потому что основной клеткой патологического субстрата болезни являются морфологически почти однотипные лимфоциты. Фенотипирование позволяет с помощью моноклональных антител типировать бластные и зрелые клетки крови миело-, моно-, лимфоцитарного ряда по наличию дифференцировочных антигенов (рецепторов) в клеточной стенке. Выявление антигена обозначается CD<sup>1</sup>. В разд. 1.3 «Комплексное исследование иммунного статуса организма» частично изложена характеристика и диагностическое значение исследования клеточных маркеров; здесь будет дана краткая характеристика антигенных маркеров клеток применительно к диагностике гемобластозов. На мембранах клеток крови и костного мозга можно выявить следующие антигены (маркеры).

1. CD2-антиген — мономерный трансмембранный гликопротеид. Он присутствует на поверхности всех циркулирующих в крови Т-лимфоцитов и на некоторых естественных киллерах (NK). CD2-антиген принимает участие в процессе альтернативной активации Т-лимфоцитов. Выявление этого антигена с помощью моноклональных антител в клинической практике используется для фенотипирования острых Т-клеточных лейкозов, лимфом, хронических воспалительных и иммунодефицитных состояний.

2. CD3-антиген представляет собой белковый комплекс, который ассоциирован с антигенспецифическим Т-клеточным рецептором и является основным функциональным маркером Т-лимфоцитов. Он способствует передаче сигнала активации с мембраны в цитоплазму клетки. Определение CD3-антигена показано для диагностики острых Т-клеточных лейкозов, лимфом (CD3-антиген не

экспрессируется при не-Т-клеточных лимфоидных новообразованиях) и иммунодефицитных заболеваниях.

3. CD4-антиген является трансмембранным гликопротеидом, экспрессируемым субпопуляцией Т-хелперов (индукторов), составляющих 45 % лимфоцитов периферической крови. На ранних стадиях развития лимфоцитов в тимусе антиген CD4, так же как CD8, экспрессируется всеми кортикальными лимфоцитами. Медуллярные тимоциты, фенотип которых сходен со зрелыми CD4<sup>+</sup>-Т-клетками периферической крови (Т-хелперы), экспрессируют уже либо CD4-, либо CD8-рецепторы. В периферической крови до 5 % клеток несут одновременно маркеры CD4 и CD8. Незначительная экспрессия CD4 наблюдается на некоторых клетках макрофаго-моноцитарного ряда. CD4-антиген экспрессируется в большинстве случаев Т-клеточных лимфом, включая грибовидный микоз, а также при Т-клеточном лейкозе, ассоциированном с Т-лимфотропным вирусом человека (HTLV).

4. CD5-антиген — одноцепочечный гликопротеид, присутствующий на всех зрелых Т-лимфоцитах и большинстве тимоцитов, слабо экспрессируется В-лимфоцитами. CD5-антиген выявляется на неопластических клетках В-клеточного хронического лимфоцитарного лейкоза и centroцитарной лимфомы. При других типах злокачественных лимфоидных заболеваний — фолликулярной лимфоме, волосатоклеточном лейкозе, крупноклеточной лимфоме — CD5-антиген не экспрессируется.

5. CD7-антиген — одноцепочечный белок, является самым ранним маркером Т-клеточной дифференцировки. Он экспрессируется про-Т-лимфоцитами еще до миграции их в тимус. CD7-антиген выявляется на большинстве НК-клеток, слабая экспрессия наблюдается на моноцитах. В-лимфоциты и гранулоциты не содержат этого антигена. Определение CD7-антигена применяют в целях диагностики лимфом, детских Т-клеточных лимфобластных лейкозов.

6. CD8-антиген — белок, состоящий из двух полипептидных цепей, связанных дисульфидными мостиками. Он экспрессируется субпопуляцией цитотоксических и супрессорных Т-лимфоцитов, которые составляют 20–35 % лимфоцитов периферической крови. Этот антиген имеют также НК-лимфоциты, кортикальные тимоциты, 30 % медуллярных тимоцитов и субпопуляции клеток костного мозга. CD8-антиген исследуют для количественной оценки



содержания Т-супрессоров (см. выше разд. 1.3.2.8. «Т-лимфоциты-супрессоры (CD8) в крови»).

7. CD10-антиген представляет собой мембранассоциированную эндонептидазу. Антиген CD10 экспрессируется молодыми формами В-лимфоцитов и субпопуляцией кортикальных лимфоцитов. CD10-антиген экспрессируется всеми клетками острого лимфобластного лейкоза.

8. CD11c-антиген экспрессируется на клеточной мембране макрофагов, моноцитов, гранулоцитов, NK-клеток и клетках волосатоклеточного лейкоза.

9. CD13-антиген — гликопротеид, экспрессируется клетками миеломоноцитарного ряда (клетки-предшественницы, нейтрофилы, базофилы, эозинофилы, моноциты и клетки миелоидных лейкозов). Он отсутствует на Т- и В-лимфоцитах, эритроцитах и тромбоцитах.

10. CD14-антиген — поверхностный мембранный гликопротеид. Он экспрессируется в основном моноцитами и макрофагами, а также клетками Лангерганса и дендритными клетками. CD14-антиген определяется более чем у 95 % моноцитов периферической крови и костного мозга. Сильная экспрессия CD14-антигена наблюдается при острых миелобластных лейкозах. При острых и хронических лимфобластных лейкозах экспрессии этого антигена не наблюдается.

11. CD15-антиген представляет собой олигосахарид. Он принимает участие в процессах фагоцитоза и хемотаксиса. Этот антиген присутствует на поверхности зрелых гранулоцитов и клетках Березовского—Штернберга. Экспрессия антигена CD15 выявляется при болезни Ходжкина. При неходжкинских лимфомах CD15-антиген в большинстве случаев не обнаруживается.

12. CD16-антиген экспрессируется на поверхности гранулоцитов, моноцитов, макрофагов и NK-клеток. Все лимфоциты, экспрессирующие этот антиген, обладают способностью к антителозависимой клеточной цитотоксичности. CD16-антиген определяют при типировании хронических миелоцитарных лейкозов, для характеристики NK-клеток.

13. CD19-антиген — гликопротеин, присутствующий на всех периферических В-лимфоцитах, а также на всех предшественниках В-клеток. Он отсутствует на плазматических клетках. Является самым ранним маркером В-клеток и играет важную роль в регу-

ляции активации и пролиферации В-лимфоцитов. CD19-антиген экспрессируется на всех неопластических клетках острых лейкозов В-клеточного происхождения, а также выявляется при некоторых формах острых монобластных лейкозов.

14. CD20-антиген представляет собой негликозилированный белок. В онтогенезе В-лимфоцитов антиген CD20 появляется после CD19 на стадии пре-В-клеточной дифференцировки лимфоцитов. На плазматической мембране плазматических клеток он отсутствует. Экспрессируется при острых лимфобластных лейкозах, В-клеточных хронических лимфоцитарных лейкозах, волосатоклеточных лейкозах, лимфомах Беркитта и очень редко — при острых монобластных лейкозах.

15. CD21-антиген — гликопротеид, в значительном количестве выявляется на В-лимфоцитах в лимфоидных органах и в небольшом количестве — на В-клетках периферической крови. Функционально антиген CD21 является рецептором вируса Эпштейна—Барр.

16. CD22-антиген — белок, состоящий из двух полипептидных цепей. Экспрессируется на мембране большинства В-лимфоцитов, включая клетки-предшественницы (пролимфоциты). Антиген не экспрессируется на В-лимфоцитах (плазматические клетки) после их активации. Наиболее выраженная экспрессия CD22-антигена выявляется на клетках при волосатоклеточном лейкозе, слабая — при миелоидных лейкозах и не-Т-клеточных острых лимфобластных лейкозах.

17. CD23-антиген представляет собой гликопротеид, экспрессируется активированными В-лимфоцитами периферической крови в гораздо большей степени, чем покоящимися В-клетками. CD23 опосредует IgE-зависимую цитотоксичность и фагоцитоз макрофагами и эозинофилами.

18. CD25-антиген — одноцепочечный гликопротеид, идентифицированный как низкоаффинный рецептор к IL-2. Этот рецептор экспрессируется на активированных Т-лимфоцитах и с меньшей плотностью — на активированных В-клетках. В периферической крови здоровых людей антиген присутствует более чем на 5% лимфоидных клеток.

19. CD29-антиген является рецептором фибронектина. Широко распространен в тканях, экспрессируется лейкоцитами. Определение CD29-антигена на клетках периферической крови используют

для типирования субпопуляции Т-клеток, имеющих фенотип CD4<sup>+</sup>, CD29<sup>+</sup>, которые называют хелперами 2-го типа (Th2). Эти клетки посредством продукции лимфокинов участвуют в реализации гуморального иммунного ответа.

20. CD33-антиген — трансмембранный гликопротеид. Присутствует на поверхности клеток миелоидного и моноцитарного рядов. Он обнаруживается на поверхности моноцитов и, в меньшей степени, гранулоцитов периферической крови. Около 30% клеток костного мозга экспрессируют CD33-антиген, включая миелобласты, промиелоциты и миелоциты. Антиген отсутствует на мембранах полипотентных стволовых клеток. Определение CD33-антигена используют для характеристики клеток при лейкозах миелоидного происхождения. Клетки лейкозов лимфоидного и эритроидного происхождения не экспрессируют CD33<sup>-</sup>.

21. CD34-антиген является фосфогликопротеидом, экспрессируется гемопоэтическими клетками-предшественниками, включая монопотентные стволовые клетки. Наиболее выраженная экспрессия антигена наблюдается у ранних предшественников; при созревании клеток экспрессия маркера падает. CD34-антиген обнаружен также на эндотелиальных клетках. Определение CD34-антигена используют для характеристики клеток при острых миело- и лимфобластных лейкозах. При хронических лимфоцитарных лейкозах и лимфомах экспрессии антигена CD34 не выявляется.

22. CD41a-антиген экспрессируется тромбоцитами и мегакариоцитами. Моноклональные антитела для выявления CD41a-антигена используют для диагностики мегакариобластного лейкоза. При тромбостении Планцманна экспрессия этого антигена отсутствует или значительно подавлена.

23. CD42b-антиген — мембранный гликопротеид, состоящий из двух полипептидных цепей. Маркер выявляется на поверхности тромбоцитов и мегакариоцитов. В клинической практике обнаружение CD42b-антигена используется для диагностики тромбоцитопатии — синдрома Бернара—Сулье.

24. CD45RA-антиген принадлежит к классу трансмембранных гликопротеидов. Является общим лейкоцитарным антигеном. Экспрессируется на клеточной мембране В-лимфоцитов, в меньшей степени — Т-лимфоцитов и на зрелых медуллярных тимоцитах. Маркер не экспрессируется гранулоцитами.

25. CD45RO-антиген — низкомолекулярная изоформа CD45-RA-антигена — общего лейкоцитарного антигена. Он выявляется на Т-клетках (Т-лимфоциты памяти), субпопуляции В-лимфоцитов, моноцитах и макрофагах. Моноклональные антитела к CD45RO-антигену взаимодействуют с большинством тимоцитов, субпопуляцией покоящихся CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов и зрелыми активированными Т-клетками. Клетки миеломоноцитарного происхождения, гранулоциты и моноциты также несут этот антиген. Слабое цитоплазматическое окрашивание наблюдается в случаях центробластных и иммунобластных лимфом.

26. CD46-антиген представляет собой O-гликозилированный димер. Он широко распространен в тканях и экспрессируется Т- и В-лимфоцитами, моноцитами, гранулоцитами, НК-клетками, тромбоцитами, эндотелиальными клетками, фибробластами, но отсутствует на поверхности эритроцитов. CD46 обеспечивает защиту тканей и трофобластов от действия комплемента.

27. CD61-антиген — тромбоцитарный антиген. Экспрессируется на тромбоцитах периферической крови и костного мозга, а также на мегакариоцитах и мегакариобластах. Его определение используют в качестве маркера при острых мегакариобластных лейкозах. Экспрессия антигена отсутствует или подавлена у больных с тромбоцитозом Гланцманна.

28. CD95-антиген, называемый также Fas или APO-1, — трансмембранный гликопротеин, являющийся членом группы рецепторов к фактору некроза опухолей. Он экспрессируется в значительных количествах на CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов периферической крови и, в меньшей степени, на В-лимфоцитах и НК-клетках. Этот антиген экспрессируется также на гранулоцитах, моноцитах, клетках тканей и неопластических клетках. Связывание CD95 с Fas-лигандом (CD95L) индуцирует в клетках апоптоз.

29. CD95L-антиген, или Fas-лиганд, — мембранный белок, относящийся к группе рецепторов к фактору некроза опухолей. Этот антиген экспрессируется цитотоксическими Т-лимфоцитами, НК-клетками и, очень часто, опухолевыми клетками; является основным индуктором апоптоза в клетках.

30. HLA-DR-антиген представляет собой мономорфную детерминанту молекул II класса HLA. Маркер экспрессируется на клетках Лангерганса, дендритных клетках лимфоидных органов, определен-

ных типах макрофагов, В-лимфоцитах, активированных Т-клетках и эпителиальных клетках тимуса. В клинике определение маркера используют для количественного определения активированных Т-лимфоцитов, имеющих фенотип CD3<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>.

Используя различный подбор моноклональных антител к маркерам, можно составить фенотипический портрет клеток, характерных для данной формы лейкоза (табл. 1.42 и 1.43).

Таблица 1.42

**Иммунофенотипическая характеристика лейкозов**  
[Myers A. R., 1996]

Иммуновариант лейкоза	Доминирующий клеточный фенотип
Пре-Т-клеточный острый лимфолейкоз	CD7 <sup>+</sup> , CD5 <sup>+</sup> , CD2 <sup>+</sup> , CD3 <sup>+</sup> , CD15 <sup>-</sup> , CD23 <sup>-</sup> , CD13 <sup>-</sup>
Т-клеточный острый лимфолейкоз	CD33 <sup>-</sup> , CD7 <sup>+</sup> , CD5 <sup>+</sup> , CD2 <sup>+</sup> , CD3 <sup>+</sup> , CD10 <sup>-</sup> , CD15 <sup>-</sup> , CD22 <sup>+</sup> , CD23 <sup>-</sup> , CD13 <sup>-</sup> , CD33 <sup>-</sup>
«Нулевой» острый лейкоз	CD38 <sup>+/+</sup> , CD58 <sup>+/+</sup> , CD11a <sup>+/+</sup> , CD1 <sup>-</sup> , CD5 <sup>-</sup> , CD7 <sup>-</sup> , CD8 <sup>-</sup> , CD10 <sup>-</sup> , CD19 <sup>-</sup> , CD22 <sup>-</sup> , CD23 <sup>-</sup> , HLA-DR <sup>-</sup> , CD11b <sup>-</sup> , антиген эритробластов (-)
Ia-вариант острого лимфолейкоза	CD11a <sup>+</sup> , CD38 <sup>+</sup> , CD58 <sup>+/+</sup> , CD1e <sup>+</sup>
Про-В-клеточный лимфолейкоз (в рамках Ia-варианта)	Ia <sup>+</sup> , CD19 <sup>+</sup> , CD22 <sup>+</sup> , CD34 <sup>+/+</sup>
«Общий» острый лимфолейкоз (пре-пре-В-клеточный)	CD19 <sup>+</sup> , CD10 <sup>+/+</sup> , CD20 <sup>+/+</sup> , CD22 <sup>+/+</sup> , CD34 <sup>+/+</sup> , CD58 <sup>+/+</sup> , CD2 <sup>-</sup> , CD3 <sup>-</sup>
Пре-В-клеточный острый лимфолейкоз	HLA-DR <sup>+</sup> , CD19 <sup>+</sup> , CD10 <sup>+/+</sup> , CD58 <sup>+/+</sup> , CD2 <sup>-</sup> , CD3 <sup>-</sup> , CD13 <sup>-</sup> , CD33 <sup>-</sup>
В-клеточный острый лимфолейкоз	Ia <sup>+/+</sup> , CD2 <sup>-</sup> , CD3 <sup>-</sup> , CD15 <sup>-</sup>
Вариант острого лимфолейкоза с коэкспрессией миелоидных антигенов CD11b, CD15	Фенотип «общего» ОЛЛ(Ia <sup>+</sup> ) + CD11b <sup>+</sup> , CD15 <sup>+</sup>
	Фенотип Т1-ОЛЛ(Ia <sup>+</sup> ) + CD11b <sup>+</sup> , CD15 <sup>+</sup>
	Фенотип Ia-ОЛЛ + CD11b <sup>+</sup> , CD15 <sup>+</sup>
	Фенотип Т-ОЛЛ + CD11b <sup>+</sup> , CD15 <sup>+</sup>
	Фенотип «нулевого» ОЛЛ + CD11b <sup>+</sup> , CD15 <sup>+</sup>

Иммуновариант лейкоза	Доминирующий клеточный фенотип
M <sub>0</sub> (острый недифференцированный лейкоз)	HLA-DR <sup>+</sup> , CD15 <sup>+/+</sup> , CD13 <sup>+/+</sup> , CD33 <sup>+/+</sup>
M <sub>1</sub> (острый миелобластный лейкоз без созревания)	HLA-DR <sup>+/+</sup> , CD38 <sup>+/+</sup> , CD11a <sup>+/+</sup> , CD53 <sup>+</sup> , CD11b <sup>+/+</sup> , CD15 <sup>+/+</sup> , CD7 <sup>+/+</sup>
M <sub>2</sub> (острый миелобластный лейкоз с созреванием)	HLA-DR <sup>+/+</sup> , CD38 <sup>+/+</sup> , CD72 <sup>+</sup> , CD53 <sup>+</sup> , CD11b <sup>+/+</sup> , CD7 <sup>+/+</sup> , CD11b <sup>++</sup> , CD11a <sup>+/+</sup> , CD15 <sup>++</sup>
M <sub>3</sub> (острый промиелоцитарный лейкоз)	CD53 <sup>+</sup> , CD11b <sup>+/+</sup> , CD15 <sup>+/+</sup> , HLA-DR <sup>+/+</sup> , CD38 <sup>-</sup> , CD2 <sup>-</sup> , CD3 <sup>-</sup> , CD4 <sup>-</sup> , CD8 <sup>-</sup> , CD19 <sup>-</sup> , CD72 <sup>-</sup>
M <sub>4</sub> (острый миеломонобластный лейкоз)	HLA-DR <sup>+</sup> , CD15 <sup>+</sup> , CD38 <sup>+</sup> , CD11b <sup>+</sup>
M <sub>5</sub> (острый монобластный лейкоз)	HLA-DR <sup>+</sup> , CD11b <sup>+</sup> , CD15 <sup>+</sup> , CD38 <sup>-</sup>
M <sub>6</sub> (острый эритромиелоз)	Гликофорин А + антиген эритроцитов, HLA-DR <sup>+/+</sup> , CD38 <sup>-</sup>
M <sub>7</sub> (острый мегакариобластный лейкоз)	CD38 <sup>+</sup> , CD41 <sup>+</sup> , HLA-DR <sup>+/+</sup> , CD7 <sup>+/+</sup> , CD4 <sup>-</sup> , CD8 <sup>-</sup> , CD11b <sup>-</sup> , CD15 <sup>-</sup> , CD33 <sup>-</sup> , CD10 <sup>-</sup> , CD34 <sup>-</sup> , CD71 <sup>-</sup>

Примечание: ОЛЛ — острый лимфолейкоз; «+» — выраженная экспрессия, «+/-» — варибельность экспрессии, «-» — отсутствие экспрессии антигена.

Помимо использования методов иммунофенотипирования для диагностики и дифференциальной диагностики гемобластозов особенно важным оказалось их применение в процессе лечения для оценки состояния ремиссии и остаточной популяции лейкозных клеток. Зная фенотипический «портрет» бластных клеток в период установления диагноза, по этим маркерам удастся обнаружить клетки лейкозного клона в период ремиссии, а по нарастанию их количества — предсказать развитие рецидива задолго (1–4 мес.) до появления его клинико-морфологических признаков [Воробьев А. И., 1995]. Возможность прогнозирования и ранней диагностики рецидивов острого лейкоза позволяет своевременно изменить или интенсифицировать программу лечения больного во избежание его полного развития. Именно использование методов иммунофенотипирования позволило зарубежным клиникам достичь больших успехов в лечении гемобластозов. В настоящее время ведутся исследования

Таблица 1.43

## Имунофенотипы острого лимфоцитарного лейкоза [Rich R. R., 2001]

Подтип	Экспрессируемый лейкоцитарный антиген (% положительных результатов)										Частота, %
	CD19	CD22	CD79a	CD10	CD7	CD2	CD3	sig $\mu$	sig $\mu$	sig $\kappa$ или $\gamma$	
Пре-пре-B	100	> 95	> 95	0	0	0	0	0	0	0	5
Ранний пре-B	100	> 95	> 95	95	5	< 5	0	0	0	0	60–65
Пре-B	100	100	100	> 95	0	0	0	100	0	0	20–25
Преходящий пре-B	100	100	100	50	0	0	0	100	100	0	1–3
B	100	100	100	50	0	0	0	> 95	> 95	> 95	2–3
Пре-T	< 5	0	0–20	45	100	0	100	0	0	0	1
T	< 5	0	0–20	45	100	95	100	0	0	0	10–15

Примечание: sig  $\mu$  — цитоплазматический иммуноглобулин  $\mu$ -цепи; sig  $\mu$  — поверхностный иммуноглобулин  $\mu$ -цепи; sig  $\kappa$  — поверхностный иммуноглобулин  $\kappa$ -цепи; sig  $\gamma$  — поверхностный иммуноглобулин  $\gamma$ -цепи.

по использованию ПЦР для обнаружения в пробах костного мозга и периферической крови бластных клеток при острых лейкозах.

## 1.6. АНАЛИЗ КЛЕТОЧНОГО ЦИКЛА КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА ПО СОДЕРЖАНИЮ ДНК

Исследование позволяет дифференцировать клетки костного мозга по фазам синтеза ДНК (стадии  $G_1$ , S,  $G_2$  и м). Большинство клеток костного мозга делятся через разные промежутки времени. Отрезок времени между концом одного митоза и концом следующего называется клеточным циклом. Весь цикл распадается на две части: процесс деления (митоз) и подготовка к нему (интерфаза). Удвоение ДНК происходит в интерфазе, причем начинается задолго до митоза и заканчивается также до его начала. Период синтеза ДНК называется S-периодом, промежуток между окончанием митоза и началом S-периода —  $G_1$ -периодом, промежуток между окончанием S-периода и началом митоза —  $G_2$ -периодом. В интерфазы происходит удвоение не только ДНК, но и всей массы клетки. Рост клетки идет в течение всех периодов интерфазы, но особенно быстро во второй ее половине — в S- и  $G_2$ -периодах. В это время очень интенсивно синтезируются РНК и белок. К началу митоза синтетические процессы замирают и возобновляются в следующей интерфазе.

Большинство специализированных клеток костного мозга либо не делятся совсем, либо делятся чрезвычайно редко и не находятся в митотическом цикле. Теоретически выход клеток из митотического цикла возможен в любой период интерфазы ( $G_1$ , S и  $G_2$ ), но практически абсолютное большинство выходят из стадии  $G_1$ . Выход из цикла может быть обратимым (под воздействием каких-то факторов клетка может приступить к синтезу ДНК и разделиться, например: лимфоциты периферической крови входят в цикл и делятся под воздействием ФГА) или необратимым (гранулоциты крови при гемобластозах). Клетки костного мозга, которые находятся в митотическом цикле, могут проходить его с различной скоростью. Быстрее всего его проходят клетки-предшественницы зрелых форм (у морфологически недифференцируемых клеток-предшественниц гемопоэза цикл составляет около 8 ч). Определение содержания ДНК в каждой клетке клеточной суспензии позволяет получить распределение клеток по различным фазам клеточного цикла. Нормальные



Параметры клеточного цикла миелокариоцитов при различной патологии [Шмаров Д. А., 1997]

Заболевание	Стадия цикла, %				
	S	G <sub>2+m</sub>	G <sub>1/0</sub>	S+G+m	S/(G <sub>2+m</sub> )
Здоровые	12,3 ± 0,3	3,8 ± 0,17	83,9 ± 0,4	16,2 ± 0,4	3,34 ± 0,15
Лейкозы (дебют или рецидив)					
• острый миелобластный лейкоз	10,6 ± 0,70	2,55 ± 0,40	85,2 ± 1,40	14,5 ± 1,46	4,45 ± 0,41
• острый лимфобластный лейкоз	15,7 ± 1,50	4,00 ± 0,46	80,3 ± 1,80	19,7 ± 1,80	4,73 ± 0,45
• лимфосаркома с лейкомизацией	14,9 ± 1,44	2,89 ± 0,35	82,4 ± 1,50	17,8 ± 1,60	6,62 ± 1,15
• бластный криз хронического миелолейкоза	14,7 ± 1,54	3,28 ± 0,38	81,8 ± 1,63	18,0 ± 1,58	5,00 ± 0,81
Лейкозы (ремиссия)					
• острый миелобластный лейкоз	15,6 ± 1,06	4,20 ± 0,36	80,0 ± 1,32	19,8 ± 1,38	4,00 ± 0,25
• острый лимфобластный лейкоз	15,2 ± 0,95	4,83 ± 0,53	79,8 ± 1,22	20,2 ± 1,25	3,88 ± 0,27
• лимфосаркома с лейкомизацией	14,5 ± 1,15	5,24 ± 1,52	80,1 ± 2,00	19,8 ± 2,00	4,00 ± 0,51
• хронический миелолейкоз	12,4 ± 1,38	3,72 ± 0,64	83,8 ± 1,86	16,2 ± 1,86	3,71 ± 0,59
Анемии					
• железодефицитная	12,7 ± 0,6	3,76 ± 0,29	83,6 ± 0,90	16,4 ± 0,7	3,37 ± 0,50
• пернициозная	36,1 ± 3,0	6,28 ± 0,94	57,6 ± 2,60	42,3 ± 2,6	7,40 ± 1,73
• аутоиммунная гемолитическая	20,4 ± 1,4	5,95 ± 0,49	73,7 ± 1,87	26,3 ± 1,9	3,50 ± 0,20
• апластическая	7,63 ± 1,2	1,98 ± 0,36	90,4 ± 0,36	9,6 ± 1,4	4,22 ± 0,56

величины клеточного цикла для миелокариоцитов костного мозга по содержанию ДНК представлены в табл. 1.44.

Анализ клеток костного мозга проводят с использованием ДНК-специфических красителей, возбуждающихся в ультрафиолетовой области. Выявление самых незначительных различий во флуоресценции позволяет идентифицировать анеуплоидные, а также активно пролиферирующие клетки. По соотношению делящихся и специализированных клеток в костном мозге можно судить о состоянии костного мозга, а у больных с гемобластозами заблаговременно предсказывать развитие бластного криза. Изучение митотического цикла клеток костного мозга по содержанию ДНК позволяет выявить клетки метастатических новообразований, диагностировать и следить за протеканием гемобластозов, оценивать функциональное состояние костного мозга. Наиболее оптимальную информацию о состоянии костного мозга можно получить при одновременном анализе содержания ДНК в клетках костного мозга и характеристике этих клеток с помощью моноклональных антител к различным антигенам, экспрессируемым той или иной популяцией клеток костного мозга. Параметры клеточного цикла миелокариоцитов при различной патологии представлены в табл. 1.44.

Анализ цикла клеток костного мозга по содержанию ДНК используется для диагностики бластных кризов при лимфопролиферативных заболеваниях, для дифференциальной диагностики анемий, а также для выявления патологии созревания и дифференцировки клеток костного мозга.

Метод проточной цитометрии позволяет также быстро и достоверно выявлять аномальное содержание ДНК в ядрах опухолевых клеток при различных формах рака. Обычно малый размер ядра опухолевых клеток и диплоидное содержание ДНК связаны с благоприятным прогнозом в отношении 5-летней выживаемости. Большой размер ядра и анеуплоидия связаны с худшим прогнозом и выживаемостью.

## 1.7. ДИАГНОСТИКА РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

В настоящее время к ревматическим заболеваниям относят большое число заболеваний, в основе которых лежит системное или локальное поражение соединительной ткани, а наиболее ярким клиническим

проявлением служит поражение суставов. На III Всесоюзном съезде ревматологов [1985] была принята Рабочая классификация и номенклатура ревматических заболеваний (ВНОР), согласно которой все формы ревматических болезней распределены на 14 рубрик:

- 1) ревматизм (ревматическая лихорадка);
- 2) диффузные болезни соединительной ткани (основные формы — СКВ, системная склеродермия, диффузный фасциит, дерматомиозит/полимиозит, болезнь Шегрена, смешанные заболевания соединительной ткани и др.);
- 3) системные васкулиты (узелковый периартериит, гранулематозные артерииты, гиперергические ангииты, облитерирующий тромбангиит, синдром Бехчета);
- 4) ревматоидный артрит;
- 5) ювенильный артрит;
- 6) анкилозирующий спондилоартрит (болезнь Бехтерева);
- 7) артриты, сочетающиеся со спондилитом;
- 8) артриты, связанные с инфекцией;
- 9) *микрористаллические артриты*;
- 10) остеоартроз;
- 11) другие болезни суставов;
- 12) артропатии при неревматических заболеваниях;
- 13) болезни внесуставных мягких тканей;
- 14) болезни костей, хряща и остеохондропатии.

Для лабораторной диагностики ревматических заболеваний применяется целый комплекс показателей (общеклиническое исследование крови, СОЭ, общеклиническое исследование мочи, суставной жидкости, биохимические показатели, исследование иммуноглобулинов, ЦИК, криоглобулинов, показателей системы комплемента и др.). В данном разделе приведено диагностическое значение показателей, характеризующих аутоиммунный компонент ревматических заболеваний. Лабораторные исследования при ревматических заболеваниях необходимы для:

- подтверждения диагноза;
- характеристики активности процесса;
- оценки эффективности терапии;
- прогнозирования исходов;
- уточнения патогенетических механизмов.

### 1.7.1. Клетки красной волчанки в крови

**Клетки красной волчанки (LE-клетки) в крови в норме отсутствуют.**

Волчаночные клетки служат морфологическим проявлением иммунологического феномена, характерного для СКВ. Они образуются в результате фагоцитоза нейтрофильными лейкоцитами (реже моноцитами) ядер клеток, содержащих деполимеризованную ДНК. Фагоцитируемая субстанция представляет собой иммунный комплекс, состоящий из волчаночного фактора (антиядерный фактор — антитела класса IgG к ДНК-гистоновому комплексу), остатков ядра лейкоцитов и комплемента. Обнаружение LE-клеток — специфический симптом СКВ. Исследование необходимо проводить до начала кортикостероидной терапии. Отрицательный результат исследования не исключает возможности наличия данного заболевания. LE-клетки обнаруживаются в раннем периоде болезни, а также при выраженном нефротическом синдроме и потере с мочой большого количества белка. Волчаночный фактор может содержаться в пунктате костного мозга, в белковых жидкостях (экссудаты, мочевой белок при поражениях почек). Частота обнаружения LE-клеток у больных острой формой СКВ колеблется от 40 до 95%. У больных СКВ можно обнаружить: 1) волчаночные клетки, 2) свободное ядерное вещество (гематоксилиновые тельца, тельца Хиргрейвса) и 3) «розетки» — скопление нейтрофилов вокруг волчаночных клеток. Чаще волчаночные клетки находят при обострении заболевания. Появление их в большом количестве — прогностически неблагоприятный признак. При улучшении состояния больного в процессе его лечения количество LE-клеток уменьшается, а иногда они исчезают и вовсе.

Истинные LE-клетки нужно дифференцировать от так называемых tart-клеток и ложных волчаночных В-клеток. Указанные клетки отличаются от LE-клеток по морфологическим признакам и диагностического значения для СКВ не имеют.

LE-феномен наблюдается, хотя и редко (до 10% случаев), при плазмоцитоме, тяжелых поражениях печени, острых лейкозах, остром ревматизме, эритродермиях, милиарном туберкулезе, пернициозной анемии, при непереносимости антибиотиков — пенициллина и, особенно, апресолина (гидролизина), при узелковом периартериите,

гемолитической анемии, тромбоцитопенической пурпуре. При этих заболеваниях единичные волчаночные клетки обнаруживаются непостоянно.

### 1.7.2. Титр антител к нуклеарным антигенам (антинуклеарный фактор) в сыворотке крови

У здоровых людей титр антител к нуклеарным антигенам в сыворотке крови 1:40—1:80, клинически значимый титр обычно  $\geq 1:160$  при использовании метода непрямой иммунофлюоресценции (НИФ), при использовании скрининговых методов — ниже 1:50.

Антинуклеарный фактор — антитела к цельному ядру. Это гетерогенная группа аутоантител, реагирующих с различными компонентами ядра. Определение антител к нуклеарным антигенам в сыворотке крови — тест на системные заболевания соединительной ткани. Скрининг на наличие антинуклеарных антител (АНА) в сыворотке крови проводят методом радиоиммунного анализа (РИА), реакции связывания комплемента (РСК) или гематглютинации. Положительные результаты скрининга должны быть подтверждены методом НИФ. В качестве клеточного субстрата используют препараты, приготовленные из суспензии клеток с крупными ядрами — из человеческих клеток линии HEp-2 — human epithelial cells (клетки рака гортани) или срезов мышиной печени. Определение АНА проводят в следующей последовательности:

- 1) клеточный субстрат инкубируют с исследуемой сывороткой;
- 2) отмывают от несвязавшихся сывороточных белков;
- 3) инкубируют в присутствии меченых флюоресцеином антител к человеческим иммуноглобулинам, после чего вновь отмывают;
- 4) исследуют с помощью флюоресцентного микроскопа.

АНА, содержащиеся в исследуемой сыворотке крови, связываются с клеточным субстратом, а затем — с мечеными антителами против иммуноглобулинов. Если сыворотка не содержит АНА, меченые антитела, добавленные к клеточному субстрату, при отмывке удаляются. Для определения титра АНА исследование проводят с серийными разведениями исследуемой сыворотки крови. Каждая лаборатория сама устанавливает нормальные значения титра АНА,

поскольку они зависят от типа клеточного субстрата и способа его фиксации. Клиническое значение определения АНА зависит от титров антител и типа иммуофлюоресценции (типа окрашивания). Тип окрашивания (характер распределения флюоресцентной метки в клетках) при разных заболеваниях неодинаков и определяет направление дальнейшего установления специфичности АНА (схема 1.7).

*Диффузное окрашивание* (равномерное распределение метки) наименее специфично и встречается чаще всего при СКВ, лекарственном волчаночном синдроме и других аутоиммунных заболеваниях, а также у пожилых лиц. При диффузном окрашивании клеток реакцию необходимо повторить с большим разведением исследуемой сыворотки. Если тип окрашивания остается прежним, наиболее вероятно, что антиген, против которого направлены АНА, — дезоксирибонуклеопротеид.

*Гомогенное или периферическое окрашивание* наблюдается, когда в исследуемой сыворотке преобладают антитела к двуспиральной ДНК. Этот тип окрашивания наиболее часто встречается при СКВ.

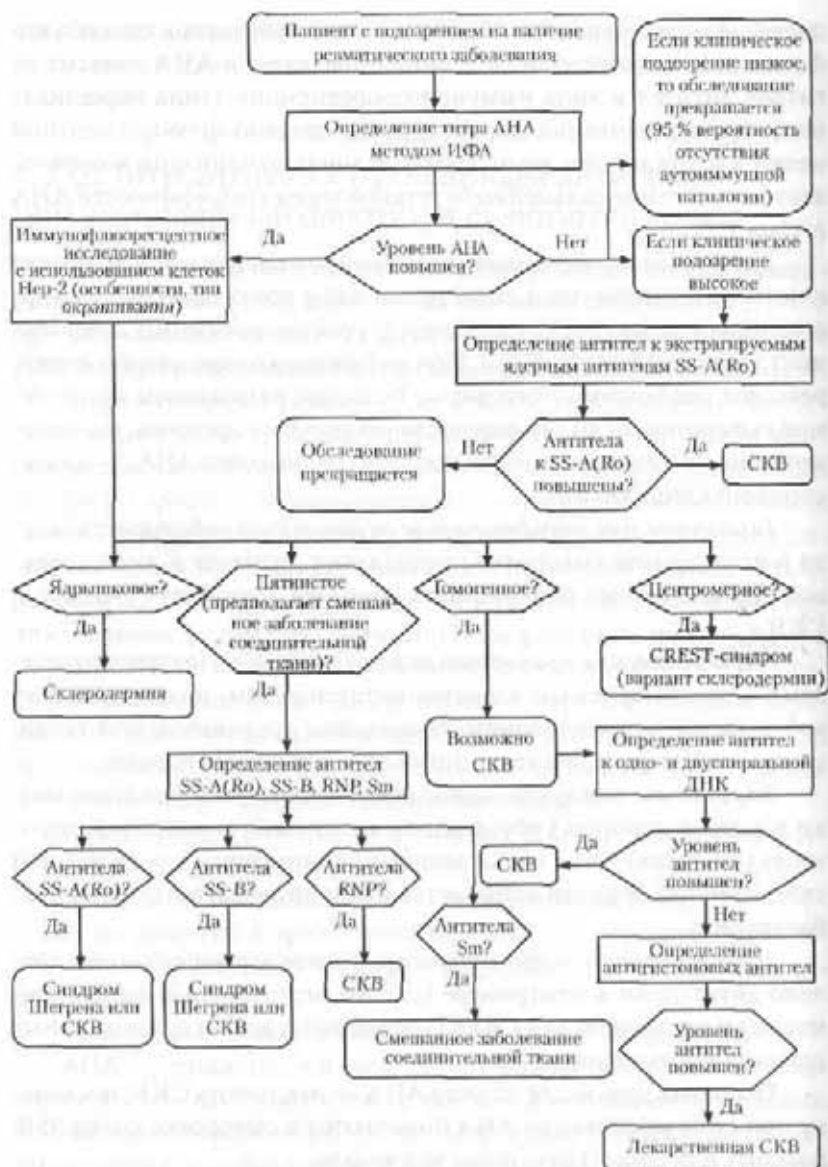
*Пятнистое или крапчатое окрашивание* обусловлено антителами к экстрагируемым ядерным антигенам (см. ниже) и обычно наблюдается при смешанном заболевании соединительной ткани, синдроме Шегрена, лекарственном волчаночном синдроме.

*Ядрышковое или нуклеолярное окрашивание* (распределение метки в районе ядрышек) обусловлено антителами к рибонуклеопротеиду (см. ниже). Этот тип окрашивания характерен для системной склеродермии, изредка встречается и при других аутоиммунных заболеваниях.

*Центромерное или дискретное крапчатое окрашивание* обусловлено антителами к центромере (специализированный домен хромосом) и характерно для CREST-синдрома и других аутоиммунных ревматических заболеваний.

Основная цель исследования АНА — исключить СКВ, поскольку при этом заболевании АНА появляются в сыворотке крови 95 % больных в течение 3 мес. после его начала.

Определение антител к нуклеарным антигенам имеет большое значение для диагностики коллагенозов. При узелковом периартериите титр (при использовании скрининговых методов)



**Схема 1.7.** Алгоритм диагностики ревматических заболеваний [Lehman С. А., 1998]

может увеличиваться до 1:100, при дерматомиозите — 1:500, при СКВ — 1:1000 и выше. При СКВ тест на выявление антинуклеарного фактора обладает высокой (89 %) степенью чувствительности, но умеренной (78 %) специфичностью по сравнению с тестом на определение антител к нативной ДНК (чувствительность — 38 %, специфичность — 98 %). Корреляции между высотой титра и клиническим состоянием больного нет, однако выявление антител к нуклеарным антигенам служит диагностическим критерием и имеет важное патогенетическое значение. Антитела к нуклеарным антигенам высокоспецифичны для СКВ. Сохранение высокого уровня антител в течение длительного времени является неблагоприятным признаком. Снижение уровня предвещает ремиссию или (иногда) летальный исход.

При склеродермии частота выявления антител к нуклеарным антигенам составляет 60–80 %, однако титр их ниже, чем при СКВ. Между уровнем антинуклеарного фактора в крови и степенью тяжести заболевания не существует взаимосвязи. При ревматоидном артрите часто выделяют СКВ-подобные формы течения, поэтому довольно часто выявляются антитела к нуклеарным антигенам. При дерматомиозите антитела к ядерным антигенам в крови встречаются в 20–60 % случаев (титр до 1:500), при узелковом периартериите — в 17 % (1:100), при болезни Шегрена — в 56 % в сочетании с артритом и в 88 % случаев при комбинации с синдромом Гужеро—Шегрена [Йегер Л., 1990]. При дискоидной красной волчанке антинуклеарный фактор выявляется у 50 % больных.

Кроме ревматических заболеваний, антитела к ядерным антигенам в крови обнаруживают при хроническом активном гепатите (в 30–50 % наблюдений). Титр иногда достигает 1:1000. Аутоантитела к нуклеарным антигенам могут выявляться в крови при инфекционном мононуклеозе, острых и хронических лейкозах, приобретенной гемолитической анемии, болезни Вальденстрема, циррозе печени, билиарном циррозе печени, гепатитах, малярии, лепре, хронической почечной недостаточности, тромбоцитопениях, лимфопролиферативных заболеваниях, миастении и тимоммах.

Почти в 10 % случаев антинуклеарный фактор обнаруживается у здоровых людей, однако титр у них не превышает 1:50.

В последние годы был разработан метод иммуноферментного анализа (ИФА) определения АНА различного спектра, который от-



личается простотой выполнения и постепенно вытесняет иммунофлюоресцентный метод.

Взаимосвязь заболеваний между частотой обнаружения АНА, типом окрашивания и их титром представлена в табл. 1.45 и 1.46.

Таблица 1.45

Частота обнаружения антиядерных факторов при ревматических заболеваниях и у здоровых лиц [Насонова В. А., Бунчук Н. В., 1997]

Заболевание	Частота, %	Титры
СКВ — активная форма	98–100	+++
Дискондная красная волчанка	40	++, +++
Лекарственная волчанка	100	++
Системная склеродермия	70	++, +++
Синдром Шегрена	60	++, +++
Смешанное заболевание соединительной ткани	100	++, +++
Болезнь Рейно	60	++, +++
Ревматоидный артрит	40	+, ++
Ювенильный хронический артрит	20	+, ++
Полмиозит и дерматомиозит	30	+
Узелковый периартерит	17	+
Здоровые		
• до 40 лет	3	+
• после 40 лет	25	+

Таблица 1.46

Типы иммунофлюоресценции АНА и аутоантител при различных ревматических заболеваниях [Насонова В. А., Бунчук Н. В., 1997]

Тип иммунофлюоресценции АНА	Тип аутоантител	Заболевание
Гомогенное или периферическое	ДНК, гистон (H1, H2B, H3, H4)	Любые аутоиммунные ревматические болезни, лекарственная волчанка; неревматические заболевания
Пятнистое или крапчатое	SM, RNP, Ro, La, Jo-1	Смешанное заболевание соединительной ткани, реже — другие аутоиммунные ревматические заболевания

Тип иммунофлюоресценции АНА	Тип аутоантител	Заболевание
Диффузное	Дезоксирибонуклеопротеид	СКВ, лекарственный волчаночный синдром и другие аутоиммунные заболевания, а также у пожилых лиц
Центромерное или дискретное крапчатое	Антитела к центромере	CREST-синдром, реже — синдром Рейно и другие аутоиммунные ревматические заболевания
Ядрышковое или нуклеолярное	РНК-полимераза I, Scl-70, перирибосомальные частицы	Системная склеродермия (диффузная форма)

Целый ряд лекарственных препаратов может приводить к ложноположительному повышению уровня АНА: аминосалицилаты, карбамазепин, хлорпромазин, изониазид, альдомет, метилдопа, прокаинамид, йодиды, оральные контрацептивы, тетрациклины, тиазидные диуретики, сульфаниламиды и др.

Ложноповышенные титры антител к нуклеарным антигенам могут быть получены у пациентов, принимающих  $\beta$ -адреноблокаторы, карбамазепин, метилдопу, нифедипин, гидралазин, нитрофурантонин, пеницилламин, вследствие способности этих препаратов вызывать интерференцию при проведении исследования.

### 1.7.3. Антитела к двуспиральной ДНК в сыворотке крови

Уровень антител к двуспиральной ДНК (anti-dsDNA) в сыворотке крови в норме менее 30 МЕ/мл, 30–40 МЕ/мл — пограничные значения.

Anti-dsDNA высокоспецифичны для СКВ. Существует хорошая корреляция между активностью СКВ и уровнем anti-dsDNA в сыворотке крови. Однократное повышенное определение anti-dsDNA позволяет сделать диагностический, но не прогностический вывод. Уровень anti-dsDNA коррелирует с активностью СКВ и наличием гломерулонефрита. При исследовании уровня антител к ДНК в динамике отсутствие снижения его уровня или его нара-

тание является неблагоприятным прогностическим признаком. Снижение уровня предвещает ремиссию или (иногда) летальный исход. Антитела могут исчезать при ремиссии заболевания. Частота выявления повышенного уровня anti-dsDNA в сыворотке крови при различных формах СКВ представлена в табл. 1.47.

Таблица 1.47

**Частота выявления в сыворотке при различных формах СКВ  
[Tzioufas A. G., 1987]**

Заболевание	Частота выявления, %
СКВ	5–55
СКВ с активным заболеванием почек	89
СКВ с активными непочечными проявлениями	56
Неактивная СКВ	32
Ревматоидный артрит	0
Системная склеродермия	0

Одновременное определение АНА с их высокой чувствительностью и anti-dsDNA в сыворотке крови с их высокой специфичностью является наилучшей комбинацией тестов для диагностики СКВ.

#### 1.7.4. Антитела к односпиральной ДНК в сыворотке крови

Уровень антител к односпиральной ДНК (anti-ssDNA) в сыворотке крови в норме менее 300 МЕ/мл, 300–350 МЕ/мл — пограничные значения.

Anti-ssDNA обнаруживаются как при ревматических заболеваниях, так и при других соматических и инфекционных заболеваниях. Однако наибольшая частота выявления повышенного уровня этих антител наблюдается при СКВ и склеродермии, особенно при ее активных и злокачественных формах (табл. 1.48).

При оценке результатов определения anti-ssDNA и anti-dsDNA следует иметь в виду, что многие воспалительные или другие процессы, сопровождающиеся деструкцией тканей, могут приводить к повышению уровня этих антител в сыворотке крови.

Таблица 1.48

## Частота выявления anti-ssDNA при СКВ [Ruffatti A., 1991]

Заболевание	Частота выявления, %
СКВ	65
• активная	78
• неактивная	43
Ревматоидный артрит	35
Системная склеродермия	50
Локализованная склеродермия	0
Здоровые	0

## 1.7.5. Антитела к экстрагированным ядерным антигенам в сыворотке крови

Уровень антител к экстрагированным ядерным антигенам (ENA) в сыворотке крови в норме:

- к антигенам RNP/Sm < 20 МЕ/мл, 20–25 МЕ/мл — пограничные значения;
- к антигенам Sm < 20 МЕ/мл, 20–25 МЕ/мл — пограничные значения;
- к антигенам SS-A(Ro) < 20 МЕ/мл, 20–25 МЕ/мл — пограничные значения;
- к антигенам SS-B(La) < 20 МЕ/мл, 20–25 МЕ/мл — пограничные значения;
- к антигенам Scl-70 — отсутствуют.

ENA-тест предназначен для количественного определения IgG-антител против экстрагируемых ядерных антигенов — RNP/Sm, Sm, SS-A(Ro) и SS-B(La) в сыворотке крови. ENA представляют собой комплексы растворимых рибонуклеопротеидов. Антитела против различных ядерных антигенов являются весьма важным диагностическим признаком для мониторинга и диагностики различных ревматических заболеваний (табл. 1.49).

Антитела к антигенам RNP/Sm (антитела к белковым компонентам  $U_1$  малого ядерного рибонуклеопротеида —  $U_1$  РНК) обнаруживаются при смешанном заболевании соединительной ткани, реже — при СКВ и других аутоиммунных ревматических заболеваниях. Уровень антител не коррелирует с активностью и развитием

обострения. У больных СКВ, в сыворотке крови которых присутствуют антитела к Sm-антигенам, антитела к рибонуклеопротеиду не обнаруживаются. Для исключения ложноположительных результатов используется иммуноблоттинговый анализ.

Таблица 1.49

## Частота выявления антител к различным ENA [Йегер Л., 1990]

Тип антител	Заболевание	Частота, %
Sm	СКВ	10–40
RNP/Sm	СКВ	20–30
	Смешанные заболевания соединительной ткани	95–100
SS-A(Ro)	СКВ	15–33
	Системная склеродермия	60
	Неонитальная красная волчанка	100
	Синдром Шегрена	40–70
SS-B(La)	СКВ	10–15
	Системная склеродермия	25
	Синдром Шегрена	15–60
Sci-70	Системная склеродермия	20–40

Sm-антиген состоит из 5 малых ядерных РНК ( $U_1$ ,  $U_2$ ,  $U_4$ ,  $U_5$ ,  $U_6$ ), ассоциированных с 11 или большим числом полипептидов ( $A^1$ ,  $B^1/B^2$ ,  $C$ ,  $D$ ,  $E$ ,  $F$ ,  $G$ ). Антитела к Sm-антигенам являются специфичными для СКВ и присутствуют у 30–40% больных с данным заболеванием. Эти антитела весьма редко встречаются при других заболеваниях соединительной ткани, а если и выявляются, то указывают на сочетание заболеваний. Однако уровень антител к Sm-антигенам не коррелирует с активностью и клиническими субтипами СКВ [Насонова В. А., Бунчук Н. В., 1997]. Согласно клиническому руководству, антитела к Sm-антигенам — один из критериев диагностики СКВ.

SS-A(Ro)-антигены — полипептиды, образующие комплексы с Ro РНК ( $hY1$ ,  $hY3$  и  $hY5$ ). Антитела к SS-A(Ro)-антигенам наиболее часто обнаруживаются при синдроме и болезни Шегрена, а также при СКВ. При последней продукция данных антител ассоциируется с определенным набором клинических проявлений

и лабораторных нарушений: фотосенсибилизацией, синдромом Шегрена, гиперпродукцией ревматоидного фактора. Присутствие этих антител в крови беременных увеличивает риск развития неонатального волчаночноподобного синдрома у новорожденных. Антитела к SS-A(Ro)-антигенам могут быть повышены у 10 % больных ревматоидным артритом.

SS-B(La)-антиген — нуклеоцитоплазматический фосфопротеиновый комплекс с Ro малых ядерных РНК (Ro hY1-hY5), являющийся транскриптором РНК-полимеразы III. Антитела к SS-B(La)-антигенам обнаруживаются при болезни и синдроме Шегрена (в 40–94 % случаев). При СКВ антитела к SS-B(La)-антигенам чаще встречаются в начале болезни, развивающейся в пожилом возрасте (в 9–35 % случаев), и ассоциируются с низкой частотой развития нефрита.

Scl-70-антиген — топоизомераза I — белок с молекулярной массой 100 000 Да и его фрагмент, имеющий молекулярную массу 67 000 Да. Антитела к Scl-70-антигену чаще выявляют при диффузной (40 %), чем при ограниченной (20 %), форме системной склеродермии. Они высокоспецифичны для данного заболевания (чувствительность — 20–55 % в зависимости от аналитического метода) и являются плохим прогностическим признаком. Присутствие антител к Scl-70-антигену при системной склеродермии в сочетании с носительством генов HLA-DR3/DRw52 в 17 раз увеличивает риск развития легочного фиброза. Обнаружение антител к Scl-70-антигену в крови у больных с изолированным феноменом Рейно указывает на высокую вероятность возникновения системной склеродермии.

### 1.7.6. Антицентрометрические антитела в сыворотке крови

**Антицентрометрические антитела в норме в сыворотке крови отсутствуют.**

Центромера является специализированным доменом хромосом ядросодержащих клеток. Она содержит кинетохор — область центромеры, с которой ассоциируются фибриллы веретена. Антицентрометрические антитела — это антитела к кинетохору.

Антицентрометрические антитела в сыворотке определяют методом НИФ с использованием культуры клеток человека Нер-2

(характерно пятнистое окрашивание). Эти антитела обычно выявляют у больных с CREST-синдромом (кальциноз, феномен Рейно, вовлечение пищевода, склеродактилия, телеангиэктазии) в 80–90 % случаев, системной склеродермией — в 10–15 % случаев и СКВ, изредка — при полимиозите, дерматомиозите и первичном билиарном циррозе печени. Обнаружение антицентрометрических антител у больных системной склеродермией свидетельствует о благоприятном прогнозе. В этом случае внутренние органы не поражаются или поражаются незначительно.

### 1.7.7. Антитела к гистонам в сыворотке крови

**Антитела к гистонам в норме в сыворотке крови отсутствуют.**

Гистоны — компоненты ядра, состоящие из трех субъединиц: двух димеров H2A–H2B, которые фланкированы тетрамером H3–H4 и ассоциированы с третьей субъединицей, состоящей из двух витков молекулы ДНК. Соединение этой структуры (нукleosомы) с другими нукleosомами осуществляется линкерной ДНК, которая ассоциируется с гистонами H1.

С помощью методов иммуноблоттинга, РИА и твердофазного ИФА можно определить пять типов антител к гистонам. Антитела к гистонам H1 и H2B являются ранними маркерами СКВ и выявляются у 60–75 % больных. При лекарственной волчанке, вызванной приемом прокаида (новокаида) и гидралазина, более чем у 90 % больных обнаруживают антитела к гистонам H2A, H2B, H3 и H4 (относятся к классу IgG). Однако специфичность этих антител для волчанки, индуцированной хинидидом, составляет 50 %, а гидралазином — 35 % [Rose N. R. et al., 1997]. При этом также выявляются anti-ssDNA и АНА (методом иммунофлюоресценции). Антитела к гистонам H2A–H2B могут быть обнаружены у 19 % больных, получающих прокаида, но не имеющих симптомов волчанки, и у 20 % больных СКВ.

### 1.7.8. Антитела к аминоксилсинтетазе тРНК в сыворотке крови

**Антитела к аминоксилсинтетазе тРНК (антисинтетазные антитела) в норме в сыворотке крови отсутствуют.**

К антисинтетазным антителам относятся антитела к гистидин- (Jo-1), трсонин- (PL-7), глицин- (EJ), лизин-, излейцин-(OJ)-тРНК-синтетазам.

Антитела Jo-1 (гистидин-тРНК-синтетаза) выявляют у 20–40 % взрослых больных полимиозитом/дерматомиозитом, включая первичный идиопатический полимиозит/дерматомиозит и перекрестные синдромы. Особенно часто они обнаруживаются при наличии у больного полимиозитом интерстициального поражения легких. Антитела Jo-1 также выявляют при системной склеродермии с миозитом.

Антитела Рm-1 направлены против нескольких нуклеарных и цитоплазматических белков; обычно обнаруживаются при системной склеродермии, сопровождающейся миозитом, и при полимиозите/дерматомиозите (редко).

Спектр различных аутоантител и их клиническая ассоциация представлены в табл. 1.50 [Rich R. R. et al., 2001].

Таблица 1.50

## Спектр различных аутоантител и их клиническая ассоциация

Тип аутоантител	Клиническая ассоциация
Антитела к двуспиральной ДНК	Высокоспецифичны для СКВ, коррелируют с активностью заболевания и наличием нефрита
Антитела к односпиральной ДНК	Обладают низкой специфичностью в отношении СКВ
Антитела к гистонам	СКВ и лекарственно-индуцированная волчанка
Антитела Sm (к РНК протенам В/W, С, D, E)	Высокоспецифичны для СКВ, не коррелируют с активностью заболевания
Антитела к U <sub>1</sub> -РНК	Смешанные заболевания соединительной ткани
Антитела SS-A(Ro)	Волчанка новорожденных (вместе с антителами SS-B(La))
Антитела SS-B(La)	Синдром Шегрена, волчанка новорожденных (вместе с антителами SS-A(Ro))
Антифосфолипидные	Волчаночный антикоагулянт Тромбозы Привычный выкидыш/внутриутробная гибель плода



Окончание табл. 1.50

Тип аутоантител	Клиническая ассоциация
	Фокальный неврологический дефицит Тромбоцитопения Ливедо ретикулярис
Антитела к антигенам клеточной мембраны	Тромбоцитопения, лимфопения Гемолитическая анемия Распространенный неврологический дефицит

### 1.7.9. Антитела к рибосомальным Р-протеинам в сыворотке крови

**Антитела к рибосомальным Р-протеинам в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Рибосомальные белки представлены Р-протеинами Р0, Р1 и Р2. Антитела к рибосомальным Р-протеинам в сыворотке крови выявляют примерно у 10–20 % больных СКВ, и их уровень коррелирует с тяжестью течения заболевания. Наличие данного вида антител при СКВ также коррелирует с повреждением ЦНС, почек и печени. В ряде исследований указывается на ассоциацию антител к рибосомальным Р-протеинам с волчаночным психозом, другие авторы не выявляют такой связи. Несмотря на редкое обнаружение антител к рибосомальным Р-протеинам, они являются высокоспецифичным маркером для СКВ, поскольку не выявляются при других ревматических заболеваниях.

### 1.7.10. Активность дезоксирибонуклеазы 1 в сыворотке крови

**В качестве cutoff для активности дезоксирибонуклеазы 1 используют значения ниже 25 % стандартной активности для сыворотки и ниже 35 % для плазмы крови.**

Дезоксирибонуклеаза 1 (ЕС 3.1.21.1) — фермент, участвующий в метаболизме хроматина. Кроме того, ему принадлежит важная роль в деградации ДНК при апоптозе. Недавние исследования показали, что клетки с дефицитом дезоксирибонуклеазы 1 резистентны к апоптозу [Zhang J., Xu M., 2002]. Они не способны удалять циркулирующие

нуклеосомы. В результате незавершенности апоптоза у животных развивается lupus-подобный синдром. Дефицит дезоксирибонуклеазы I обнаружен у пациентов с СКВ, при этом степень дефицита фермента коррелирует с высоким титром антител к нуклеосомальным антигенам. Дальнейшие исследования показали, что даже единственная мутация в последовательности нуклеотидов в одном гене, кодирующем синтез дезоксирибонуклеазы I, приводит к снижению общей активности этого фермента. В-лимфоциты больных СКВ с этой мутацией имеют только 30–50 % активности дезоксирибонуклеазы I по сравнению со здоровыми людьми. Соответственно, титр IgG-антител к нуклеосомальным антигенам в 7–8 раз выше у пациентов с СКВ и наличием мутации, чем у больных СКВ без мутации, и в 70–80 раз выше по сравнению со здоровыми [Yasumoto K. et al., 2001]. Определение активности дезоксирибонуклеазы I в сыворотке (плазме) крови используют для диагностики СКВ. Важность исследования активности фермента для клинической практики обусловлена еще и тем, что в настоящее время получен фармацевтический препарат рекомбинантной человеческой дезоксирибонуклеазы I, который успешно используется для лечения пациентов с легочным фиброзом. Имеются данные и о положительном эффекте лечения препаратами дезоксирибонуклеазы I больных СКВ, что позволяет применять исследование активности фермента для мониторинга терапии.

### 1.7.11. Антитела к $\alpha$ -фодрину в сыворотке крови

В качестве cutoff для антител IgG и IgA к  $\alpha$ -фодрину в сыворотке крови используют значения выше 10 МЕ/мл.

Фодрин — главный актинсвязывающий протеин эукариотического цитоскелета, представляющий собой димер, который состоит из двух субъединиц —  $\alpha$  и  $\beta$ .

Во время апоптоза от  $\alpha$ -фодрина-димера отщепляется субъединица с молекулярной массой 120 000 Да, которая присутствует в больших количествах в слюнных железах. В настоящее время неизвестно, какие механизмы лежат в основе активации протеолиза фодрина. Возможно, это каким-то образом обусловлено активацией протеаз во время апоптоза. Показано, что при синдроме Шегрена  $\alpha$ -фодрин участвует в стимуляции Т-лимфоцитов периферической крови. Этот факт позволяет допустить, что увеличение протеазной

активности и стимуляция Т-клеток являются критическим моментом в прогрессировании протеолиза  $\alpha$ -фодрина во время развития первичного синдрома Шегрена.

До последнего времени для диагностики синдрома (первичный синдром) и болезни (вторичный синдром) Шегрена использовали определение антител к антигенам SS-A(Ro) и SS-B(La), несмотря на то, что они могут быть повышены при других ревматических заболеваниях (в первую очередь при СКВ). Аутоантитела к  $\alpha$ -фодрину специфически обнаруживаются в сыворотке крови взрослых с первичным и вторичным синдромом Шегрена и не встречаются при других ревматических заболеваниях без симптомов сухости во рту. В противоположность взрослым антитела к  $\alpha$ -фодрину часто выявляют при юношеской форме СКВ и ревматоидного артрита. В недавних исследованиях было показано, что антитела к  $\alpha$ -фодрину при синдроме Шегрена могут быть обнаружены в сыворотке крови раньше, чем антитела к антигенам SS-A(Ro) и SS-B(La). Обнаружение антител IgG и IgA к  $\alpha$ -фодрину является новым, более чувствительным и специфичным маркером для диагностики синдрома и болезни Шегрена [Gilboe I. M. et al., 2001].

### 1.7.12. Ревматоидный фактор в сыворотке крови

**Референтные величины ревматоидного фактора (РФ) в сыворотке крови при определении методом нефелометрии менее 14 МЕ/мл.**

РФ — аутоантитела классов IgG, IgM, IgA и IgE, реагирующие с Fc-фрагментом IgG. Он образуется в результате стимуляции агрегированным модифицированным IgG или за счет воздействия экзогенного перекрестно реагирующего антигена при нарушении иммунорегуляции. Комплексы IgG + РФ не фагоцитируются, откладываются в периваскулярном пространстве, стимулируя клеточно-опосредованные цитотоксические реакции, что приводит к возникновению воспаления.

Наибольшее клиническое значение имеет определение РФ IgM, которое выполняют с помощью латекс-агглютинации (частицы латекса, нагруженные IgG человека) или реакции Ваалера—Розе (эритроциты барана, нагруженные IgG кролика). Реакция Ваалера—Розе — менее чувствительный, но более специфичный метод определения РФ при ревматоидном артрите. Для определения

РФ используются также методы нефелометрии и ИФА (позволяет определять РФ, относящийся к различным классам иммуноглобулинов — G, M, A).

При оценке результатов определения РФ методом нефелометрии значения в диапазоне 30–50 МЕ/мл следует рассматривать как слабopоложительные в отношении ревматоидного артрита. Чувствительность и специфичность различных методов определения РФ представлены в табл. 1.51.

Таблица 1.51

**Чувствительность и специфичность различных методов определения РФ [Rose N. R. et al., 1997]**

Метод	Чувствительность, %	Специфичность, %
Нефелометрия	82 (60–100)	96 (83–100)
ИФА	85 (69–98)	94 (90–96)
Реакция агглютинации	74 (31–100)	93 (87–97)

Повышение уровня РФ в крови характерно для ревматоидного артрита (до 90 % больных); зависимости титра РФ от продолжительности заболевания не выявлено. Обнаружение РФ при наличии соответствующей клинической картины подтверждает диагноз ревматоидного артрита, но возможны его серонегативные формы. Повышение титра РФ определяется не ранее чем через 6–8 нед. после клинических проявлений. Отрицательный результат исследования не всегда позволяет опровергнуть диагноз [McCarty D. J., Koorman W. J., 1993]. Присутствие РФ у больных с установленным диагнозом ревматоидного артрита указывает на тяжелую форму заболевания (*протекает с выраженным воспалительным процессом в суставах, зачастую с их деструкцией*). РФ может быть обнаружен в низких титрах при инфекционном мононуклеозе, острых воспалительных процессах, СКВ с поражением суставов, синдроме Шегрена, саркоидозе, гепатите (табл. 1.52).

Повышение уровня РФ возможно при синдроме Фелти — особой форме ревматоидного артрита, характеризующейся лейкопенией и острым началом; при Стилл-синдроме (тест положителен в 20 % случаев заболевания) — юношеской форме ревматоидного артрита, который характеризуется одинаковой симптоматикой с синдромом Фелти, но, в отличие от него, сопровождается лейкоцитозом.

Таблица 1.52

Частота обнаружения РФ IgM при различных заболеваниях и у здоровых лиц [Насонова В. А., Бунчук Н. В., 1997]

Заболевание	Частота обнаружения, %
Ревматоидный артрит	50–90
СКВ	15–35
Синдром Шегрена	75–95
Полмиозит/дерматомиозит	5–10
Системная склеродермия	20–30
Инфекции	
• бактериальный эндокардит	25–50
• туберкулез	8
• сифилис	до 13
• вирусные инфекции (краснуха, корь, грипп)	15–65
Болезни легких	
• саркоидоз	3–33
• интерстициальный легочный фиброз	10–50
Первичный билиарный цирроз печени	45–70
Злокачественные новообразования	5–25
Здоровые	
• моложе 70 лет	5
• старше 70 лет	10–25

В табл. 1.53 приведены клинические и лабораторные признаки ювенильного артрита (ЮА).

### 1.7.13. Антитела к циклическому цитруллиновому пептиду в сыворотке крови

В норме антитела к циклическому цитруллиновому пептиду в сыворотке крови отсутствуют.

В 1998 г. G. A. Schellekens и соавт. обнаружили, что антитела, взаимодействующие с синтетическими пептидами, содержащими редко встречающуюся аминокислоту цитруллин, выявляются в сыворотке крови у 76 % больных ревматоидным артритом. Дальнейшие исследования показали, что эти аутоантитела направлены

Таблица 1.53

## Клинические и лабораторные признаки ювенильного артрита

Признак	ЮА с незначительными суставными проявлениями	РФ-негативный полисуставной ЮА	РФ-позитивный полисуставной ЮА	Системный ЮА
Количество пациентов с ЮА, %	35–50	30–35	5–10	10–20
Возраст начала ЮА	1–3 года	Вариабельно	Позднее детство	Вариабельно
Отношение женский/мужской пол	4+5:1	3:1	4:1	1:1
Количество вовлеченных суставов в первые 6 месяцев	< 5	≥ 5	≥ 5	Вариабельно
Картина повреждения суставов	Крупные суставы, асимметрично, часто нижних конечностей, исключая бедренные	Любые суставы, мелкие и крупные, симметрично	Любые суставы, мелкие и крупные, симметрично	Любые суставы могут быть вовлечены (поли- или олиго)
Увеит (хронический передний иридоциклит)	19 %, если АНА(+), 7–10 %, если АНА(-)	7 %, если АНА(+), 3–4 %, если АНА(-)	Редко	Редко
Наличие АНА, %	60	30–40	40–60	< 10
Ревматоидный фактор	Негативный	Негативный	100 % обычно высокий титр	Негативный
HLA-ассоциация	DR8, DR5, DPw2.1	DR8, DPw3	DR4	Вариабельно
Лейкоцитов в крови, $\times 10^9/л$	Норма	8,0–15,0	8,0–15,0	15,0–30,0
Гемоглобин, г/л	Норма	100–120	100–120	60–100
СОЭ, мм/ч	5–40	20–80	20–80	50–150
Прогноз	Общий — хороший; деструктивный артрит медленно прогрессирует; увеит может привести к слепоте	У 30–50 % прогрессирует деструктивный артрит	У > 50 % прогрессирует деструктивный артрит	Вариабелен

к циклическому цитруллиновому пептиду, содержащему измененные аргининовые остатки, и относится к классу IgG. Диагностическая чувствительность этих антител для ревматоидного артрита составляет 78 %, специфичность — 96 %. Исследование антител к циклическому цитруллиновому пептиду необходимо использовать для ранней диагностики ревматоидного артрита, так как частота их обнаружения выше у пациентов с непродолжительным анамнезом заболевания по сравнению со всеми другими маркерами. Кроме того, наличие антител к циклическому цитруллиновому пептиду может служить прогностическим маркером развития эрозивного ревматоидного артрита [Kroot E. J. A. et al., 2000].

#### 1.7.14. Антитела к кератину в сыворотке крови

**В норме антитела к кератину в сыворотке крови отсутствуют.**

Кератины относятся к промежуточным филаментам (внутриклеточная система волокнистых структур) цитоскелета различных тканей (особенно мышечной и мезенхимальной). Они состоят из 10–20 различных полипептидов и входят в состав таких белков промежуточных филаментов, как десмин, виментин, нейрофиламенты и глиальные филаменты.

Обнаружение антител к кератину в сыворотке крови является высокоспецифичным для ревматоидного артрита. Для их выявления используют метод НИФ на субстрате крысиного пищевода. Антитела к кератину обнаруживают приблизительно у 40 % больных ревматоидным артритом, из которых 14 % являются негативными по РФ, что и обуславливает высокую ценность данного теста для клинической практики. Следует отметить, что антитела к кератину в сыворотке крови можно обнаружить раньше появления клинической картины ревматоидного артрита; кроме того, у больных ревматоидным артритом с наличием антител к кератину уровень ЦИК выше, чем у пациентов без антител.

Следует заметить, что спектр аутоантител, которые могут быть выявлены у больных с ревматическими заболеваниями, очень велик. Они могут быть направлены против практически всех белков клетки или клеточных органелл (лизосомы, аппарат Гольджи), но только незначительная их часть имеет важное клиническое значение. Частота обнаружения аутоантител при различных ревматических заболеваниях приведена в табл. 1.54.





Окончание табл. 1.54

Аутоантитела	Заболевание и частота обнаружения антител, %								
	СКВ	Смешанное заболевание соединительной ткани	Прогрессирующая системная склеродермия (диффузная форма)	Прогрессирующая системная склеродермия (очаговая форма)	Поллимиозит и дерматомиозит	Неоплатальная красная волчанка	Лекарственная красная волчанка	Болезнь Шегрена	Ревматоидный артрит
Кардиолипин, β-2-гликопротеин 1	20–40								
Кератин									50
U <sub>1</sub> ядерной РНК (фибрилярин)			5–10						
PM-Scl			3						
Scl-70			25–75		8				
РНК полимераза 1			4						
РФ								60–80	65–90
Центромера				80–95					
Jo-1					25–35				

### 1.7.15. Антистрептолизин-О в сыворотке крови

**Референтные величины антистрептолизина-О (АСЛО) в сыворотке крови: у взрослых — менее 200 МЕ/мл, у детей — до 150 МЕ/мл.**

Инфекции, обусловленные стрептококком группы А, всегда вызывают специфический иммунный ответ — значительное повышение титра антител по крайней мере к одному из внеклеточных стрептококковых антигенов — стрептолизину О, дезоксирибонуклеазе В, гиалуронидазе или никотинамид-адениндинуклеотидазе.

АСЛО — антитела против стрептококкового гемолизина-О. АСЛО — маркер острой стрептококковой инфекции. Уровень АСЛО повышается в острый период инфекции (7–14-й день) и снижается в период реконвалесценции и выздоровления. В клинической практике определение АСЛО используют для наблюдения за динамикой ревматического процесса. Титр АСЛО повышается у 80–85 % больных с ревматической лихорадкой. Диагностическое значение имеет стойкое значительное повышение активности АСЛО. К 3-й неделе заболевания ревматизмом титр значительно повышается, достигая максимума к 6–7-й неделе. При благоприятном течении процесса к 4–8-му месяцу активность АСЛО снижается до нормы. Под влиянием проводимой терапии эти сроки могут сократиться. Отсутствие снижения активности АСЛО к 6-му месяцу заболевания позволяет предположить возможность рецидива. Стойкое и длительное повышение активности после ангины может быть предвестником ревматического процесса. В 10–15 % случаев ревматизма повышения активности АСЛО не определяется [Семенкова Е. Н., 1988].

Повышение АСЛО находят у некоторых больных с ревматоидным артритом, однако уровень его повышения при этом заболевании ниже, чем при ревматизме. При выделении β-гемолитических стрептококков группы А повышенные титры АСЛО выявляются у 40–50 % бактерионосителей.

Увеличение титров АСЛО обнаруживается у половины больных острым гломерулонефритом, развивающимся после стрептококковой пиодермии.

В большинстве случаев острый ревматизм или острый постстрептококковый гломерулонефрит развивается в период от 1 нед. до 1 мес. после инфицирования; в среднем латентный период со-

ставляет 18 дней для ревматизма, 12 дней — для гломерулонефрита после инфекции глотки и до 2–3 нед. — после кожных инфекций. Поэтому наиболее вероятно выявить подъем уровня АСЛО и других антител в первые 2–3 недели от начала заболевания.

Кожные стрептококковые инфекции часто вызывают слабую продукцию АСЛО, вероятно, из-за ингибирующего воздействия на него холестерина и ряда связанных с кожей липидов.

Повышение уровня АСЛО характерно для ревматизма, острой стрептококковой инфекции: ангины, скарлатины, пиодермии, гнойных воспалительных процессов, хронического тонзиллита, острого нефрита, гломерулонефрита.

Всегда необходимо помнить, что прием антибиотиков в острую фазу стрептококковой инфекции значительно снижает выраженность иммунного ответа и подъем уровня АСЛО может быть незначителен.

### 1.7.16. Антидезоксирибонуклеаза В в сыворотке крови

Титр антидезоксирибонуклеазы В в сыворотке крови у взрослых в норме менее 120 ед./мл, у детей школьного возраста — менее 200 ед./мл.

Стрептококк группы А вырабатывает четыре разных по своему антигенному составу дезоксирибонуклеазы (ДНКазы), обозначаемые А, В, С и D. Наибольшее значение среди них имеет ДНКаз В, основная часть которой вырабатывается патогенными для человека штаммами группы А.

Анти-ДНКаз В образуется в организме в ответ на инфицирование стрептококком группы А верхних дыхательных путей, так же часто, как и АСЛО, но в отличие от последнего нередко встречается и при кожных стрептококковых инфекциях.

Возрастание титра анти-ДНКазы В начинается вскоре после инфицирования и достигает максимума через 6–8 нед. Еще через несколько недель титр постепенно снижается, но значительно медленнее, чем уровень АСЛО [Дуайт А., Джонсон Р., 1998].

Повышенные титры анти-ДНКазы В выявляют в 60 % случаев стрептококкового гломерулонефрита, в то время как повышенный уровень АСЛО — только в 25 % случаев [Тиз Н., 1997].

Увеличение титра анти-ДНКазы В может расцениваться как свидетельство недавнего инфицирования стрептококком группы А. Вместе с тем однократно измеренный титр, как высокий, так и низкий, может ввести в заблуждение. Это обусловлено тем, что так называемая верхняя граница нормального уровня анти-ДНКазы В — статистическая величина для конкретной популяции в конкретное время, и использовать ее следует с осторожностью. Нормальное значение титра антител зависит от возраста пациента, времени года и исследуемой популяции. Здоровые лица после перенесенной стрептококковой инфекции могут иметь титр выше принятых нормальных величин. Эти рассуждения в полной мере относятся к АСЛО и антигиалуронидазе.

### 1.7.17. Антитела к гиалуронидазе в сыворотке крови

**Титр антител к гиалуронидазе в сыворотке крови у взрослых в норме менее 128 ед./мл.**

Стрептококковая антигиалуронидаза представляет собой антитела к гиалуронидазе — ферменту стрептококка А, расщепляющему гиалуроновую кислоту или ее соли.

Антитела к гиалуронидазе выявляют в повышенных титрах при инфекциях глотки и кожи с той же частотой, что и анти-ДНКазы В. Титр антигиалуронидазы повышается на 2-й неделе инфекции и снижается через 3–5 нед. Если одновременно определяют титр антигиалуронидазы и АСЛО у больных стрептококковым фарингитом, то 90–95 % пациентов имеют повышенный титр по крайней мере одного из показателей. При одновременном исследовании АСЛО, анти-ДНКазы В и антигиалуронидазы у больных ревматизмом в 97 % случаев титр хотя бы одного из них будет повышен [Дуайт А., Джонсон Р., 1998].

### 1.7.18. С-реактивный белок в сыворотке крови

**Референтные величины С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови менее 5 мг/л.**

СРБ — белок, состоящий из 5 идентичных, нековалентно связанных друг с другом кольцевых субъединиц. СРБ определяется в

сыворотке крови при различных воспалительных и некротических процессах и является показателем острой фазы их течения. Свое название он получил из-за способности преципитировать С-полисахарид клеточной стенки пневмококка. Синтез СРБ как белка острой фазы происходит в печени под влиянием IL-6 и других цитокинов.

СРБ усиливает подвижность лейкоцитов. Связываясь с Т-лимфоцитами, он влияет на их функциональную активность, иницируя реакции преципитации, агглютинации, фагоцитоза и связывания комплемента. В присутствии кальция СРБ связывает лиганды в полисахаридах микроорганизмов и вызывает их элиминацию. Повышение СРБ в крови начинается в течение первых 4 часов от момента тканевого повреждения, достигает максимума через 24–72 ч и снижается в ходе реконвалесценции. Важное диагностическое значение имеет количественное определение СРБ. Повышение концентрации СРБ является самым ранним признаком инфекции, а эффективная терапия проявляется снижением концентрации. Уровень белка отражает интенсивность воспалительного процесса, и контроль за ним важен для мониторинга этих заболеваний. СРБ при воспалительном процессе может повышаться в 20 раз и более. Концентрация СРБ в сыворотке крови выше 80–100 мг/л свидетельствует о бактериальной инфекции или системном васкулите. При активном ревматическом процессе повышение СРБ обнаруживается у большинства больных. Параллельно со снижением активности ревматического процесса уменьшается и содержание СРБ. Положительная реакция в неактивной фазе может быть обусловлена очаговой инфекцией (хронический тонзиллит).

Ревматоидный артрит также сопровождается повышением СРБ (маркер активности процесса), вместе с тем его определение не может помочь в дифференциальной диагностике между ревматоидным артритом и ревматическим полиартритом [McCarty D. J., Koortman W. J., 1993]. Концентрация СРБ находится в прямой зависимости с активностью анкилозирующего спондилита. При СКВ (особенно в случае отсутствия серозита) величина СРБ обычно не повышена.

При инфаркте миокарда СРБ повышается через 18–36 ч после начала заболевания, к 18–20-му дню снижается и к 30–40-му дню приходит в норму. Высокие уровни СРБ являются прогностическими показателями неблагоприятного исхода инфаркта миокарда, а также острого нарушения мозгового кровообращения. При рециди-

вах инфаркта СРБ вновь повышается. При стенокардии он остается в пределах нормы [Медведев В. В., Волчек Ю. З., 1995]. СРБ необходимо рассматривать как показатель активного атероматоза и тромботических осложнений у больных с нестабильной стенокардией.

Обычно при отечном панкреатите уровень СРБ в пределах нормы или незначительно увеличен. Для всех форм панкреонекроза характерно значительное повышение содержания СРБ в сыворотке крови. Уровень белка начинает повышаться приблизительно через 36 ч после начала заболевания, но только через 48 ч по его показателям можно оценить тяжесть острого панкреатита. Пациенты с тяжелым острым панкреатитом имеют персистирующий высокий уровень СРБ в крови. Установлено, что величины СРБ выше 150 мг/л свидетельствуют о тяжелом (панкреонекроз) или осложненном остром панкреатите [Porro G. V. et al., 1999]. Исследование СРБ имеет важное значение для определения прогноза острого панкреатита. Предсказательная ценность положительного и отрицательного результатов исследования СРБ при cutoff более 100 мг/л для определения неблагоприятного прогноза острого панкреатита составляет 73 % [Buchler M. W. et al., 1999]. Чувствительность определения СРБ для прогноза инфицированного панкреонекроза при cutoff более 300 мг/л составляет 86 %, специфичность — 75 %, для прогноза сепсиса с полиорганной недостаточностью при cutoff более 325 мг/л — 75 и 76 % соответственно, для прогноза летального исхода при cutoff более 325 мг/л — 64 и 70 % соответственно [Rau V. et al., 2000].

После хирургических вмешательств уровень СРБ повышается в ранний послеоперационный период, однако начинает быстро снижаться при отсутствии инфекционных осложнений.

СРБ является одним из опухоль-индуцируемых маркеров. Синтез его усиливается в ответ на появление в организме опухолей различных локализаций. Повышение уровня СРБ отмечается при раке легкого, предстательной железы, желудка, яичников и других опухолях. Несмотря на свою неспецифичность, СРБ совместно с другими онкомаркерами может служить тестом для оценки прогрессирования опухоли и рецидива заболевания.

Ряд исследователей отводят СРБ важную роль в образовании эмболов, состоящих из хиломикронных или агрегированных липопротеинов, что может иметь место при васкулитах.

Отмечается явная корреляция между уровнем повышения СРБ и СОЭ, однако СРБ появляется и исчезает раньше, чем изменяется СОЭ.

Повышение уровня СРБ характерно для ревматизма, острых бактериальных, грибковых, паразитарных и вирусных инфекций, эндокардита, ревматоидного артрита, туберкулеза, перитонита, инфаркта миокарда, состояний после тяжелых операций, злокачественных новообразований с метастазами, множественной миеломы.

Уровень СРБ существенно не возрастает при вирусной и спирохетной инфекции. Поэтому в отсутствие травмы очень высокие значения СРБ в большинстве случаев указывают на наличие бактериальной инфекции.

При интерпретации результатов определения концентрации СРБ необходимо учитывать, что для вирусных инфекций, метастазов злокачественных опухолей, вялотекущих хронических и ряда ревматических заболеваний характерно повышение уровня СРБ до 10–30 мг/л. Бактериальные инфекции, обострение некоторых ревматических заболеваний (например, ревматоидный артрит) и повреждение тканей (хирургическая операция, инфаркт миокарда) сопровождаются увеличением концентрации СРБ до 40–100 мг/л (иногда — до 200 мг/л), а тяжелые генерализованные инфекции, ожоги, сепсис — подъемом уровня СРБ до 300 мг/л и более [Шевченко О. П., 2003].

Долгое время считали, что клинически значимым является повышение уровня СРБ выше 5 мг/л, при значениях ниже этой величины констатировалось отсутствие системного воспалительного ответа. В дальнейшем было показано, что значения концентрации СРБ, превышающие 3 мг/л, являются неблагоприятным прогностическим признаком, связанным с риском сосудистых осложнений у практически здоровых людей и больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями [Насонов Е. Л. и др., 2002]. В связи с этим были разработаны ультрачувствительные тест-системы и наборы реактивов, основанные на модификации иммунотурбидиметрических и иммунонефелометрических методов с иммобилизацией антител на частицах латекса, для определения уровня СРБ. Эти методы обладают примерно в 10 раз большей аналитической чувствительностью по сравнению с традиционными методами и позволяют регистрировать минимальные колебания концентрации СРБ в крови даже в пределах традиционных референтных величин.

С разработкой ультрачувствительных тест-систем определения концентрации СРБ связано появление в клинической практике термина «базовый уровень СРБ» — это концентрация СРБ в сыворотке крови, стабильно выявляемая у практически здоровых лиц, а также у пациентов при отсутствии острого воспалительного процесса или вне обострения заболевания. Именно для определения базового уровня СРБ используют методы высокочувствительного анализа. Величина базового уровня СРБ имеет важное практическое значение, так как непосредственно связана с риском развития тяжелых сердечно-сосудистых заболеваний и осложнений — инфаркта миокарда и инсульта [Rader D. J., 2000; Ridker P. M., 2001]. При значениях СРБ ниже 1 мг/л риск развития сосудистых осложнений минимальный, при концентрации 1,1–1,9 мг/л — низкий, 2,0–2,9 мг/л — умеренный, выше 3 мг/л — высокий. Уровень СРБ от 3 до 10 мг/л при использовании таких тест-систем является прогностическим признаком течения ИБС, реальности развития инфаркта миокарда, нарушения мозгового кровообращения, прогрессирования окклюзии периферических артерий. Во всех этих случаях повышение СРБ в сыворотке крови является тестом активности воспаления, которое еще до развития инфаркта миокарда или инсульта определено активностью атероматоза. В связи с этим повышение уровня СРБ необходимо рассматривать как достоверный симптом атеросклероза. При оценке результатов определения уровня СРБ Американская ассоциация кардиологов рекомендует придерживаться следующих рекомендаций: уровень ультрачувствительного СРБ менее 1 мг/л — риск низкий, 1–3 мг/л — риск средний, более 3 мг/л — риск высокий [Pearson T. A. et al., 2003]. У больных с ИБС исходно высокий уровень ультрачувствительного СРБ следует рассматривать как фактор высокого риска развития рестеноза при ангиопластике и отсроченных осложнений после аортокоронарного шунтирования.

Определение уровня СРБ в сыворотке крови является хорошим критерием для установления показаний и прекращения лечения антибиотиками. В своих исследованиях S. Ehl и соавт. [1997], обследовав 176 новорожденных с подозрением на бактериальную инфекцию, показали, что уровень СРБ ниже 10 мг/л свидетельствует об отсутствии инфицирования и в проведении лечения антибиотиками нет необходимости. Новорожденные с уровнем СРБ 10 мг/л



и выше должны расцениваться как инфицированные, и им необходимо проведение антибактериальной терапии. В дальнейшем дети с уровнем СРБ в сыворотке крови 10 мг/л и выше, которым проводилось лечение антибиотиками, условно были разделены на две группы. В 1-й группе пациентам ежедневно исследовали содержание СРБ и лечение антибиотиками прекращали после нормализации его уровня. Средняя продолжительность антибиотикотерапии составила 3,7 дня (от 3 до 6 дней). Во 2-й группе лечение прекращали на основании клинических критериев. В результате средняя продолжительность лечения составила 5,5 дня (от 5 до 7 дней). После окончания антибиотикотерапии в течение 4 нед. в обеих группах отмечалась низкая степень рецидивов, и результаты лечения в двух группах достоверно не различались. Расчеты показали, что величина предсказательной ценности отрицательного результата определения уровня СРБ в сыворотке крови (СРБ ниже 10 мг/л) для прекращения лечения антибиотиками составляет 99 %. Это свидетельствует о том, что исследование уровня СРБ можно использовать в качестве важного критерия для индивидуального определения длительности лечения антибиотиками новорожденных с бактериальной инфекцией и его применение в клинической практике позволяет значительно сократить курс антибактериальной терапии.

## 1.8. ДИАГНОСТИКА АНТИФОСФОЛИПИДНОГО СИНДРОМА

Антифосфолипидный синдром (АФС) относится к группе ревматических заболеваний и характеризуется наличием аутоантител к фосфолипидам. Причины формирования аутоантител точно не установлены. Полагают, что большинство вирусов человека тропны к эндотелию сосудов. Персистируя в них, вирусы вызывают морфологические и функциональные изменения клеток; происходящее при этом разрушение основной мембраны стенок сосудов, обусловленное повреждением эндотелия, ведет к активации фактора XII Хагемана свертывающей системы крови и развитию гиперкоагуляции, а также к выработке аутоантител. Последние блокируют белки мембраны эндотелия (протеин С и S, тромбомодулин), которые препятствуют тромбообразованию, подавляют активацию компонентов

коагуляционного каскада, ингибируют продукцию антитромбина III и простациклина, оказывают непосредственное повреждающее действие на эндотелиальные клетки сосудов. Взаимодействие антител с фосфолипидами клеточных мембран приводит к конформационным и метаболическим изменениям в мембранах, нарушению функции клеток, стазу крови в капиллярах и венах, тромбозу [Кулаков В. И., Голубев В. А., 1995]. Выделяют несколько клинических вариантов АФС, которые с учетом частоты встречаемости располагаются в следующем порядке [Насонов Е. Л., 2003]:

- 1) вторичный АФС, ассоциированный с СКВ и другими заболеваниями, в первую очередь системными;
- 2) вторичный АФС у больных с волчаночноподобными проявлениями;
- 3) первичный АФС;
- 4) «катастрофический» АФС (острая диссеминированная коагулопатия/vasculopatia) с острым полиорганным тромбозом (встречается в 70 % случаев, в основном у женщин любого возраста и детей);
- 5) другие микроангиопатические синдромы (тромботическая тромбоцитопеническая пурпура/гемолитико-уремический синдром), HELLP-синдром (гемолиз, повышение активности печеночных ферментов, снижение содержания тромбоцитов, беременность), ДВС-синдром, гипопротромбический синдром;
- 6) «серонегативный» АФС.

У одних больных АФС проявляется преимущественно венозными тромбозами, у других — инсультом, у третьих — акушерской патологией или тромбоцитопенией. Частота выявления АФС при различных состояниях представлена в табл. 1.55.

Таблица 1.55

**Частота обнаружения АФС при различных состояниях  
[Alarcon-Segovia D. et al., 1987]**

Состояние	Частота обнаружения, %
Рецидивирующий венозный тромбоз	28–71
Привычный выкидыш	28–64
Поперечный миелит	50

Окончание табл. 1.55

Состояние	Частота обнаружения, %
Тромбоцитопения	27–33
Гемолитическая анемия	38
Артериальный тромбоз	25–31
Ливедо ретикулярис	25
Легочная гипертензия	20–40

Антитела к фосфолипидам представляют собой гетерогенную популяцию, реагирующую с отрицательно заряженными (кардиолипин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол и фосфатидные кислоты), реже нейтральными (фосфатидилэтаноламин) фосфолипидами и/или фосфолипидсвязывающими сывороточными белками ( $\beta$ -2-гликопротеин 1, аннексин V, протромбин) [Greaves M., 2000]. Наиболее часто в клинике для диагностики АФС используют определение антикардиолипиновых антител и обнаружение волчаночного антикоагулянта. Гораздо реже исследуют уровень специфических антител к фосфатидилсерину, фосфатидилинозитолу и фосфатидилэтаноламину, а также к  $\beta$ -2-гликопротеину 1, аннексину V и протромбину.

Критерии диагностики АФС были сформулированы в октябре 1998 г. на VIII Международном симпозиуме по антифосфолипидным антителам в Саппоро (Япония) (см. табл. 1.56) [Wilson W. A. et al., 1999].

Таблица 1.56

## Клинические и лабораторные критерии диагностики АФС

Критерии	Клинические и лабораторные признаки
Клинические	1. Сосудистые тромбозы Один или более клинических эпизода артериального, венозного тромбоза или тромбоза сосудов малого диаметра в любой ткани либо органе. Тромбоз должен быть подтвержден картиной ультразвукового доплеровского сканирования или данными гистологического исследования, за исключением поверхностных венозных тромбозов. При гистологическом исследовании тромбоз должен быть представлен значительными изменениями сосудистой стенки воспалительного характера

Критерии	Клинические и лабораторные признаки
	<p>2. Заболевания беременных:</p> <p>а) один или более необъяснимых случаев смерти морфологически нормального плода на 10-й неделе нормальной беременности или позже, причем нормальная морфология плода должна быть документирована данными ультразвукового сканирования или непосредственным исследованием плода, или</p> <p>б) один или более случаев преждевременных родов морфологически нормального плода к 34-й неделе беременности или ранее вследствие тяжелой преэклампсии, или эклампсии, или тяжелой плацентарной недостаточности, или</p> <p>в) три или более необъяснимых последовательных аборта до 10-недельного срока беременности с патологическими или анатомическими аномалиями у матери, или гормональными нарушениями, причем хромосомные причины должны быть исключены у отца и матери</p>
Лабораторные	<p>1. Антикардиолипидные антитела класса IgG и/или IgM в крови, умеренный или высокий уровень в двух или более исследованиях, полученных с интервалом не менее 6 нед., измеренных путем стандартного ИФА для <math>\beta</math>-2-гликопротеин 1-зависимых антикардиолипидных антител</p> <p>2. Позитивный волчаночный антикоагулянт в плазме в двух или более исследованиях, полученных с интервалом не менее 6 нед., причем этот антикоагулянт должен определяться согласно указаниям Международного общества тромбоза и гемостаза по следующим этапам:</p> <p>а) установление факта удлинения фосфолипидзависимой фазы свертывания плазмы по результатам скрининговых тестов, таких как активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), коагиновое время, тест Рассела с разведением, протромбиновое время с разведением;</p> <p>б) невозможность откорректировать удлиненное время скрининговых тестов путем смешивания с нормальной бестромбоцитарной плазмой;</p> <p>в) укорочение времени скрининговых тестов или его нормализация после добавления в исследуемую плазму избытка фосфолипидов и исключение других коагулопатий, например наличие ингибитора фактора VIII или гепарина</p>
Условия постановки диагноза	Пациенты с АФС должны иметь не менее одного клинического и одного лабораторного критерия

### 1.8.1. Антитела к кардиолипину в сыворотке крови

**Референтные величины антикардиолипиновых антител в сыворотке крови: IgG — менее 19 МЕ/мл, IgA — менее 15 МЕ/мл, IgM — менее 10 МЕ/мл.**

Антикардиолипиновые антитела — это антитела к фосфолипидам (кардиолипину — дифосфатидилглицеролу) клеточных мембран, ведущий показатель наличия АФС у больных. Антитела к кардиолипину являются основной фракцией антител к фосфолипидам. Определенный уровень аутоантител к кардиолипину присутствует в крови и здоровых людей, но при повышении этого уровня возникает качественно новое состояние в системе гемостаза. Эти антитела взаимодействуют с фосфолипидами мембран тромбоцитов и эндотелиальных клеток сосудов, вызывая их разрушение и способствуя возникновению тромбозов и тромбозмболий.

Нарастание уровня антител является чувствительным и специфическим лабораторным тестом, характеризующим риск возникновения *тромботических осложнений*. Больные, у которых обнаружен повышенный уровень антител к кардиолипину, относятся к группе риска возникновения тромбозов при различных заболеваниях. При беременности из-за тромбозмболических повреждений трофобласта и плаценты возможны гибель плода, выкидыш, отслойка плаценты, гипотрофия и гипоксия плода. В США частота выявления аутоантител к фосфолипидам у населения составляет 5%. Если их обнаруживают в крови у беременных, то без лечения у 95% наблюдается выкидыш и/или гибель плода. У нас в стране частота обнаружения антикардиолипиновых антител у пациенток с привычным невынашиванием составляет 27,5–31%, и практически у всех обнаруживается вирусносительство [Куляков В. И., Голубев В. А., 1995].

При диагностике АФС определяются антитела классов IgG, IgA и IgM. При АФС чаще встречаются антитела к кардиолипину классов IgG и IgA, чем класса IgM (табл. 1.57).

Уровень антикардиолипиновых антител в крови может колебаться как спонтанно, так и в ответ на какие-то патологические процессы в организме. При лечении АФС концентрация антикардиолипиновых антител может меняться, а может оставаться на прежнем уровне.

Таблица 1.57

**Частота выявления классов антител к кардиолипину при СКВ  
[Silveria L. H. et al., 1992]**

Антитела	Частота выявления, %
IgG	39–44
IgA	17–57
IgM	5–33

Антитела класса IgM наиболее быстро (их уровень снижается) реагируют на эффективное лечение АФС. Низкие уровни антикардиолипидных антител класса IgM могут быть обнаружены при ревматоидном артрите, синдроме Шегрена, лекарственно-индуцированной красной волчанке, болезни Лайма и сифилисе.

По данным литературы, антитела к фосфолипидам выявляют у 2,4–46 % больных с ишемическими нарушениями мозгового кровообращения молодого возраста [Bogouslavsky J., 1994]. Антикардиолипидные антитела обнаруживают у 60 % больных, волчаночный антикоагулянт — у 75 %, одновременно те и другие виды антител выявляют у 50–75 % больных [Калашникова Л. А. и др., 1997]. Нарушения мозгового кровообращения, ассоциирующиеся с выработкой антител к фосфолипидам, имеют ряд клинических особенностей: возникают в молодом возрасте, чаще заболевают женщины, болезнь имеет тенденцию к рецидивированию. Рецидивы возникают у 35–70 % больных, в связи с этим больным показано длительное лечение антиагрегантами и антикоагулянтами непрямого действия, а также динамический контроль за уровнем антител к фосфолипидам [Ferro D. et al., 1993].

Относительный риск развития инсультов, выкидышей или тромбозов глубоких вен у больных, имеющих антикардиолипидные антитела в крови, в 2–4 раза выше, чем у пациентов, у которых они отсутствуют.

**Антикардиолипидные антитела появляются при следующих заболеваниях:** тромбоцитопения, гемолитическая анемия, аутоиммунные заболевания, СКВ, ревматоидный артрит, ревматизм, узелковый периартериит, инфаркт миокарда, инсульт, нестабильная стенокардия, инфекции (туберкулез, лепра, стафилококковая, стрептококковая инфекции, корь, мононуклеоз, краснуха, СПИД),

артериальная гипертензия, облитерирующий эндартериит, системный атеросклероз, угроза развития тромботических осложнений, акушерская патология с развитием АФС.

### 1.8.2. Антитела к $\beta$ -2-гликопротеину 1 в сыворотке крови

**Референтные величины антител к  $\beta$ -2-гликопротеину 1 в сыворотке крови: IgG — менее 19 МЕ/мл, IgM — менее 10 МЕ/мл.**

Для того чтобы в крови произошло взаимодействие антифосфолипидных антител с фосфолипидами, необходимо присутствие кофактора. Таким кофактором является  $\beta$ -2-гликопротеин 1 (аполипопротеин Н). Установлено, что присутствие в крови именно  $\beta$ -2-гликопротеин 1-зависимых антикардиолипидных антител ассоциируется с развитием АФС, в то время как при инфекционных заболеваниях образуются  $\beta$ -2-гликопротеин 1-независимые антикардиолипидные антитела, продукция которых очень редко приводит к тромботическим нарушениям, характерным для АФС [Matsuura E. et al., 1992].

Белок —  $\beta$ -2-гликопротеин 1 имеет молекулярную массу 50 000 Да, обладает естественной антикоагулянтной активностью, присутствует в нормальной плазме в концентрации около 200 мкг/мл и циркулирует в ассоциации с липопротеинами. Природа кофакторной активности  $\beta$ -2-гликопротеина 1 при АФС в настоящее время активно изучается. Предполагается, что при АФС антикардиолипидные антитела взаимодействуют не с кардиолипином, а с конформационными эпитопами, формирующимися в процессе взаимодействия  $\beta$ -2-гликопротеина 1 с кардиолипином. Поэтому обнаружение антикардиолипидных антител в сыворотке крови одновременно с антителами к  $\beta$ -2-гликопротеину 1 повышает специфичность диагностики АФС.

В здоровой популяции определение антител к  $\beta$ -2-гликопротеину 1 классов IgG, IgM и IgA имеет специфичность 100, 93 и 96 % соответственно.

В исследованиях Т. М. Решетняк и соавт. [1998] показано, что у больных СКВ повышение уровня антител к  $\beta$ -2-гликопротеину 1, относящихся к IgG, в сыворотке крови коррелирует с развитием АФС в целом и его основными клиническими проявлениями в отдель-

ности (венозный и артериальный тромбоз, акушерская патология и тромбоцитопения), а также некоторыми дополнительными признаками синдрома (трофические язвы голени, гемолитическая анемия и поражение клапанов сердца). Кроме того, увеличение уровня антител к  $\beta$ -2-гликопротеину 1, относящихся к IgM, ассоциируется с привычным невынашиванием беременности. Оба класса антител существенно чаще обнаруживаются у больных СКВ положительных по ВА и антикардиолипидным антителам.

Исследование антител к  $\beta$ -2-гликопротеину 1 имеет одинаковую с антикардиолипидными антителами чувствительность в отношении диагностики АФС (57%), но более высокую специфичность (82 и 43% соответственно) [Roubey R. A. et al., 1996]. При использовании в качестве cutoff для всех трех типов антител (IgA, IgM, IgG) значений 20 МЕ/мл специфичность составляет для антител IgG — 100%, IgA — 96%, IgM — 93% [Dier K. et al., 1998]. Положительная предсказательная ценность этого теста (т. е. вероятность того, что у больного с повышенным уровнем антител к  $\beta$ -2-гликопротеину 1 в сыворотке крови возникнут тромботические осложнения) составляет 29%, а чувствительность (т. е. вероятность того, что у больного с тромбозами будут обнаружены антитела к  $\beta$ -2-гликопротеину 1) — 24% [Tsutsumi A. et al., 1996].

Вместе с тем следует заметить, что определение антител к  $\beta$ -2-гликопротеину 1 в сыворотке крови в настоящее время не входит в перечень официальных критериев диагностики АФС.

У больных СКВ антитела к  $\beta$ -2-гликопротеину 1 классов IgG, IgM и IgA выявляют в 23, 20 и 25% случаев заболевания, при сочетании СКВ с тромбозом и/или тромбоцитопенией — в 58, 42 и 67% случаев соответственно.

### 1.8.3. Волчаночный антикоагулянт в плазме крови

**Референтные величины волчаночного антикоагулянта в плазме крови 0,8–1,2 усл. ед.**

Волчаночный антикоагулянт (ВА) относится к иммуноглобулинам класса IgG и представляет собой антитела против отрицательно заряженных фосфолипидов [Баркаган З. С., 1988]. Свое название он получил в связи с тем, что оказывает влияние на фосфолипидзависимые коагуляционные тесты и впервые был выявлен у больных



СКВ. Наличие ВА можно заподозрить при необъяснимом удлинении АЧТВ, коагуляционных тестов со змеиным ядом, времени рекальцификации и, в меньшей степени, протромбинового времени при всех других нормальных показателях коагулограммы. ВА обычно обнаруживают по удлинению АЧТВ у больных, при этом они не имеют выраженных проявлений кровоточивости; в то же время у 30 % из них может развиваться тромбоз, т. е. имеется парадоксальная реакция — удлинение АЧТВ и развитие тромбоза. Механизм развития тромбоза у больных с ВА в настоящее время точно не установлен, однако известно, что антифосфолипидные антитела снижают продукцию простациклина эндотелиальными клетками за счет ингибирования фосфолипазы  $A_2$  и протеина S и таким образом создают предпосылки к тромбообразованию. В настоящее время ВА рассматривается как значительный фактор риска у больных с необъяснимыми тромбозами и часто обнаруживается при различных формах патологии, особенно при системных, аутоиммунных заболеваниях, АФС, у больных СПИДом (у 20–50 % больных), у женщин с привычными выкидышами и внутриутробной гибелью плода, у больных с осложнениями лекарственной терапии. Около 25–30 % пациентов с ВА имеют тромбоэмболии. Эпизоды церебральной ишемии могут быть результатом кардиоэмболии, развивающейся у пациентов с циркулирующим в крови ВА. Последний и антикардиолипидные антитела обнаруживаются одновременно у 70 % больных АФС [Brandt J. T. et al., 1991]. При СКВ ВА выявляется у 34–44 % больных [Love P. E., Santoro S. A., 1990], а среди больных, длительно получающих феноксиазин, — у 32 %. У пациентов с ВА в крови часто отмечаются ложноположительные результаты при исследовании на сифилис. Частота выявления ВА у больных лучше коррелирует с тромбозами, чем частота выявления антикардиолипидных антител.

В некоторых случаях заболевания клапанов сердца, имеющие тенденцию к тромбозам и тромбоэмболиям, связаны с наличием ВА и антикардиолипидных антител в крови больного и могут быть причиной деформаций клапанов ревматического типа и тяжелых поражений клапанов (растяжение слоев клапана тромбом).

Выявление ВА основано на удлинении фосфолипидзависимых коагуляционных реакций. Однако в связи с отсутствием стандартизации этих исследований и неоднозначными результатами в 1990 г.

подкомитет по ВА Международного общества по тромбозу и гемостазу рекомендовал основные принципы выявления ВА. Эти диагностические подходы применяются в специализированных лабораториях гемостаза. Диагностика ВА складывается из трех этапов.

**I этап** — включает скрининговые исследования, основанные на удлинении фосфолипидзависимых коагуляционных тестов. С этой целью применяются такие тесты, как АЧТВ с минимальным содержанием фосфолипидов, который намного более «чувствителен» к присутствию ВА, нежели обычный АЧТВ; протромбиновое время с разведенным тканевым тромбопластином; время разведенного яда гадоки Рассела; каолиновое время. Однако на основании удлинения скрининг-тестов судить о наличии ВА невозможно, поскольку удлинение может быть результатом циркуляции других антикоагулянтов, таких как специфические ингибиторы факторов свертывания, продукты деградации фибрина/фибриногена, парапротеины, а также дефицита факторов свертывания крови или наличия в плазме гепарина или варфарина.

**II этап** — коррекционная проба, подразумевает уточнение генеза удлинения скрининг-тестов. С этой целью исследуемая плазма смешивается с нормальной. Укорочение времени свертывания свидетельствует о дефиците факторов свертывания. Если же время не корректируется, а в ряде случаев даже удлиняется, это свидетельствует об ингибиторной природе удлинения скрининг-тестов.

**III этап** — подтверждающая проба, целью которой является выяснение природы ингибитора (специфический или неспецифический). Если при добавлении в исследуемую плазму избытка фосфолипидов время укорачивается — это свидетельство наличия ВА, если нет — в плазме присутствуют специфические ингибиторы факторов свертывания крови.

К сожалению, различные тесты обладают разной чувствительностью, и еще не разработан метод исследования, который стал бы «золотым стандартом» для детекции ВА. Поэтому, если первый же скрининговый тест на ВА отрицателен, это еще не свидетельствует об отсутствии ВА, необходимо использовать, как минимум, еще два скрининг-теста. И только если три скрининговых теста на ВА отрицательны, можно судить об отсутствии в плазме ВА.

При оценке результатов исследования на ВА по АЧТВ с минимальным содержанием фосфолипидов необходимо ориентироваться

на следующие данные: если результат исследования на ВА составляет 1,2–1,5 усл. ед., то ВА содержится в малых количествах и его активность небольшая; если 1,5–2,0 усл. ед. — ВА обнаруживается в умеренном количестве и вероятность развития тромбоза значительно возрастает; если более 2,0 усл. ед. — ВА имеется в большом количестве и вероятность возникновения тромбоза у больного очень велика.

Определение ВА и антикардиолипидиновых антител показано всем пациентам, подверженным явлениям гиперкоагуляции (церебральный тромбоз, некроз кожи, связанный с приемом кумарина и др.), даже если АЧТВ у них не удлинено.

При назначении исследования на ВА необходимо отменить больному прием гепарина за 2 дня и отменить кумариновые препараты за 2 нед. до взятия крови, так как присутствие этих препаратов в крови может давать ложноположительные результаты.

#### 1.8.4. Антитела к протромбину в плазме крови

В качестве cutoff для антител классов IgG и IgM к протромбину в плазме крови используют значение 20 Е/мл.

Протромбин (фактор II) — витамин К-зависимый гликопротеин с молекулярной массой 72 000 Да, синтезируемый в печени и участвующий в свертывании крови. Протромбин обеспечивает создание ансамбля на мембране поврежденных клеток с факторами Va, Ха, а также фосфолипидами. В результате чего в присутствии ионов  $Ca^{2+}$  образуется протромбиназный комплекс, который осуществляет расщепление протромбина до тромбина, что в дальнейшем приводит к превращению фибриногена в фибрин.

Совсем недавно были проведены исследования, которые показали, что антитела, являющиеся причиной возникновения эффекта волчаночного антикоагулянта (удлинение времени фосфолипидзависимых коагуляционных тестов), требуют присутствия плазменных протеинов, подобных  $\beta$ -2-гликопротеину 1, или протромбина. Протромбин был идентифицирован как 1-й кофактор действия антител, обеспечивающих эффект волчаночного антикоагулянта.

Антитела к протромбину являются патогенными и напрямую ингибируют факторы коагуляции, что приводит к удлинению времени фосфолипидзависимых коагуляционных тестов. Несмотря на

то что антитела к протромбину ответственны за эффект ВА, они также обнаруживаются у пациентов, страдающих АФС без красной волчанки. Предполагают, что антитела к протромбину увеличивают связывание протромбина с фосфолипидами клеточных мембран, в результате чего другие факторы коагуляции не могут связаться с фосфолипидами и, возможно, этим объясняется удлинение времени фосфолипидзависимых коагуляционных тестов. Имеется и другая точка зрения, согласно которой протромбин при наличии антител перекрестно реагирует с плазминогеном, вследствие чего фибриноген не может быть расщеплен в фибрин. В связи с этим предполагают, что существует два различных вида антител к протромбину, которые могут усиливать или ингибировать свертывание крови [Von Landenberg P. et al., 2001].

Специфичность определения антител класса IgM к протромбину в здоровой популяции составляет 97 %, IgG — 95 %. Антитела класса IgM к протромбину обнаруживают у 12,2 % больных СКВ, IgG — у 14,6 %. У пациентов с первичным АФС повышенный уровень антител класса IgM к протромбину выявляют в 27,3 % случаев заболевания, IgG — в 18,2 % [Bertolaccini M. L. et al., 1998].

Повышенный уровень антител к протромбину, особенно у пациентов с СКВ и АФС, увеличивает риск развития тромбоза глубоких вен. Кроме того, наличие антител к протромбину ассоциируется с тромбозом легочной артерии и преждевременным прерыванием беременности. Они также предсказывают высокий риск развития инфаркта миокарда у пациентов с ИБС [Vaarala O. et al., 1996].

Чувствительность определения антител IgG к протромбину для диагностики первичного АФС при преждевременном прерывании беременности составляет 74–80 %, а при вторичном АФС — 80–84 % [Geis W., Branch D. W., 2001].

Алгоритм диагностики АФС представлен на схеме 1.8.

### 1.8.5. Антитела к аннексину V в плазме крови

В качестве cutoff для антител классов IgG и IgM к аннексину V в плазме крови используют значение 15 Е/мл.

Семейство белков аннексинов было открыто в 1990 г. и сразу стало предметом интенсивного научного изучения и клинических исследований. В настоящее время в клетках млекопитающих опи-

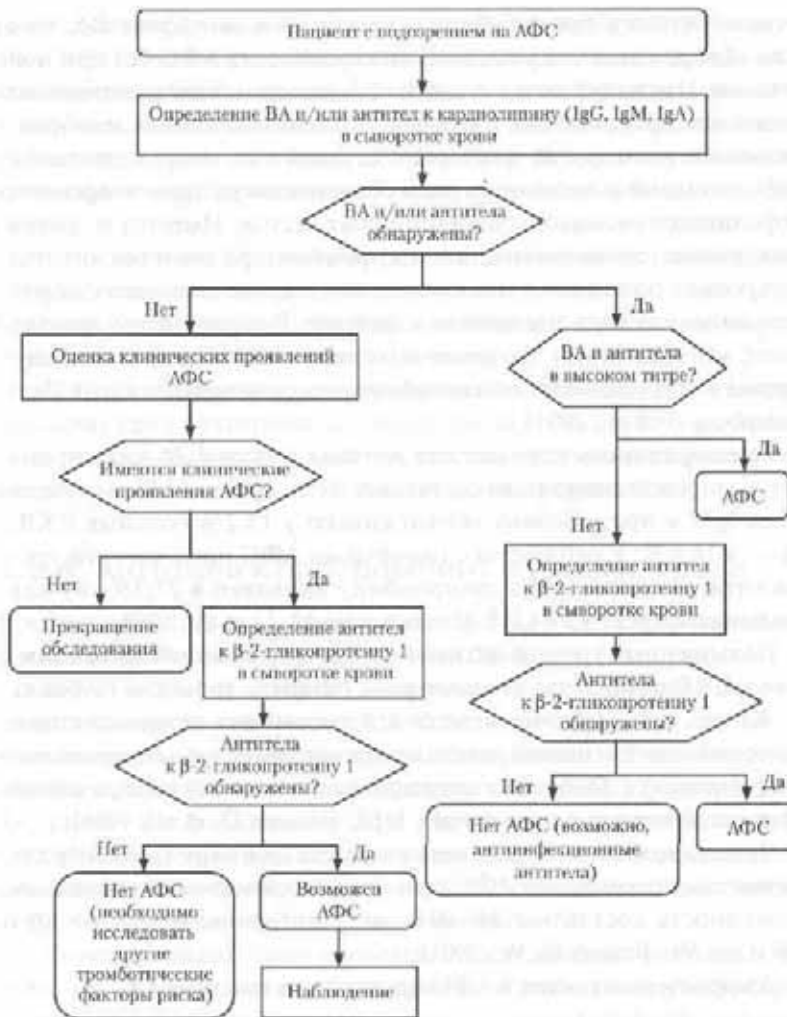


Схема 1.8. Алгоритм диагностики АФС

сано 10 различных аннексинов. Аннексин V (анхорин СII, плацентарный антикоагулянтный протеин I, кальфобиндин I, кальций-зависимый фосфолипидсвязывающий протеин 33, плацентарный протеин 4) — кальцийзависимый протеин с молекулярной массой

35 000 Да, который представлен во многих тканях, но главным образом — на эндотелиальных клетках и плаценте. В низких концентрациях аннексин V присутствует в тромбоцитах, в более высоких — в эритроцитах и лейкоцитах. Он обладает выраженными антикоагулянтными свойствами *in vitro*, что обусловлено его высоким сродством к анионным фосфолипидам и способностью препятствовать активированным факторам свертывания крови связываться с фосфолипидами клеточных мембран по кальцийзависимому механизму. Антикоагулянтная активность аннексина V базируется на его способности образовывать двумерные кластеры на поверхности клеток. Эти кластеры являются высокоэффективным щитом против связывания факторов свертывающей системы крови. Аннексин V в обязательном порядке экспрессируется трофобластами и локализуется на апикальных поверхностях микроворсинок. Удаление аннексина V с клеточной поверхности ускоряет коагуляцию плазмы крови. Эндотелиальные клетки сосудов также экспрессируют значительное количество аннексина V. Обработка этих клеток хелатором или поликлональными антителами к аннексину V приводит к ускорению коагуляции плазмы [Arnoux D. et al., 2000].

Плазменная мембрана клетки характеризуется асимметричной структурой, и исчезновение этой структуры служит первым признаком апоптоза. При нормальных условиях фосфатидилсерин локализуется на цитоплазматической стороне клеточной мембраны, в то время как при апоптозе он переходит на наружную поверхность мембраны, где высокоспецифично связывается с аннексином V. Аннексин V ингибирует прокоагулянтную и провоспалительную активность умирающих клеток при апоптозе [Reutelingsperger C. P. M. et al., 1997].

Антитела к аннексину V были описаны как высокоспецифичный фактор риска в отношении смерти морфологически нормального плода на 10-й неделе нормальной беременности или позже. Установлена строгая корреляция между наличием антител к аннексину V и неудачами оплодотворения *in vitro*. Была показана важная роль этих антител в развитии тромбозов. Повышенный уровень антител IgG и IgM к аннексину V в плазме крови обнаруживают при многих состояниях, связанных с АФС и апоптозом [Gris J. C. et al., 2000]. Антитела к аннексину V довольно часто выявляют у пациентов с СКВ [Kaburaki J. et al., 1997].

### 1.8.6. Антитела к фосфатидилсерину в сыворотке крови

В качестве cutoff для антител класса IgG к фосфатидилсерину в сыворотке крови используют значения 16, для IgM — 22 и для IgA — 20 фосфатидилсериновых единиц.

Фосфатидилсерин — еще один из представителей класса фосфолипидов. Он входит в состав клеточных мембран различных тканей. Наибольшее количество фосфатидилсерина содержат клеточные мембраны тромбоцитов и эндотелиальных клеток сосудистой стенки, участвующие в свертывании крови.

Антитела к фосфатидилсерину аналогично антикардиолипиновым антителам взаимодействуют с фосфолипидами мембран тромбоцитов и эндотелиальных клеток сосудов, вызывая их повреждение, что служит основой для развития тромбозов и тромбоэмболий.

Специфичность определения антител классов IgM и IgG к фосфатидилсерину в здоровой популяции составляет 96 %, IgA — 95 %. Антитела класса IgM к фосфатидилсерину обнаруживают у 25 % больных СКВ, IgG — у 22,2 %, IgA — у 11,1 %. У пациентов с первичным АФС повышенный уровень антител класса IgM к фосфатидилсерину выявляют в 54,5 % случаев, IgG — в 90,9 %, IgA — в 36,4 %. При СКВ без наличия тромбозов в анамнезе или тромбоцитопении повышенный уровень антител классов IgM и IgG к фосфатидилсерину выявляют у 11,1 % больных, а уровень IgA у всех пациентов остается ниже значений cutoff.

### 1.9. ДИАГНОСТИКА АУТОИММУННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Аутоиммунными принято считать те заболевания, в основе которых лежит иммунная реакция на собственные (аутологичные) антигены тканей и органов. Находящиеся в норме в небольшом количестве естественные аутоантитела, обычно IgM-класса, не вызывают патологических процессов, а стимулируют регенерацию тканей. Для иммунной аутоагрессии необходимо не только увеличение их количества, но и качественные изменения — усиление антигенной специфичности, повышение avidности и т. д. Эти антитела, по-видимому, синтезируются CD5 В-лимфоцитами.

Заболевание является аутоиммунным, когда в основе его этиологии лежат нарушения иммунологической реактивности, проявляющиеся замедленными и несмысленными реакциями, направленными против собственных антигенов.

Анализируя состав, вид, молекулярную массу и классы антигенов, выявляемых при аутоиммунных заболеваниях, можно отметить их гетерогенность по всем показателям. Одни из них являются органоспецифическими, другие — направлены против антигенов клеток и их структур. Можно выделить особый тип аутоиммунных реакций — антирецепторные, когда антитела блокируют или связывают клеточные рецепторы, что вызывает усиление или подавление функции клетки — тиреоидиты, заболевания поджелудочной железы. Третью группу составляют антитела к циркулирующим клеткам (эритроциты, лейкоциты, тромбоциты).

Критерии аутоиммунных болезней были сформулированы в 1961 г. L. Witebsky, они включают наличие аутоантител или сенсibilизированных лимфоцитов во всех случаях заболевания, хотя бы на некоторых его стадиях. В большом перечне болезней и синдромов Международной классификации болезней значительное место занимают состояния, при которых ведущим причинным фактором и первичным механизмом их развития являются иммуногенетические особенности больного и аутоиммунные нарушения. Выявление этих нарушений крайне важно с практической точки зрения — возможности их коррекции.

Диагностика аутоиммунных заболеваний должна включать следующие комплексы лабораторных тестов:

- тесты, направленные на выявление специфических аутоантител;
- тесты, позволяющие установить сенсibilизацию Т-лимфоцитов к аутоантигенам (РТМЛ, РБТЛ; см. соответствующие разделы настоящей главы);
- тесты, позволяющие выявлять иммунные комплексы и лимфоцитарную инфильтрацию пораженных тканей (биопсия);
- прогностические тесты (комплексное исследование иммунного статуса).

При диагностике аутоиммунных заболеваний надо стремиться к исследованию всего спектра аутоантител, характерного для данного заболевания, так как некоторые аутоантитела присутствуют в крови



только в острой фазе процесса и исчезают при ремиссии. При интерпретации результатов исследований надо помнить, что не всегда имеется корреляция между остротой воспалительного процесса и титрами аутоантител.

Правильное использование приведенных выше комплексов тестов может дать полезную информацию об остроте и тяжести аутоиммунного процесса, а также для подбора базисной и противовоспалительной терапии.

Наиболее раскрыты и изучены причины многих эндокринопатий, в основе которых лежат аутоиммунные процессы. Выявление в крови больного аутоантител при различных эндокринопатиях существенным образом расширяет представление клинициста о патогенезе заболевания, позволяет еще в доклинической стадии заболевания проводить целенаправленную иммунокорректирующую терапию. О роли и значении аутоиммунных процессов в эндокринной патологии говорит приведенная ниже классификация (табл. 1.58).

Таблица 1.58

**Патогенетическая классификация аутоиммунных эндокринопатий**  
[Лукьянчиков В. С. и др., 1995]

Иммуноэндокринный синдром	Иммунопатологический механизм
<i>А. Первичные аутоиммунные эндокринопатии с морфологическими последствиями аутоагрессии</i>	
Инсулинозависимый сахарный диабет	Лимфоидная и плазмоцитарная инфильтрация островков Лангерганса (инсулит) с уменьшением числа $\beta$ -клеток или с их полным исчезновением; циркулирующие аутоантитела к $\beta$ -клеткам; ЦИК
Аутоиммунный тиреоидит	Лимфоидная и плазмоцитарная инфильтрация щитовидной железы с исходом в склерозирование; циркулирующие аутоантитела к тиреоидным антигенам; ЦИК
Аддисонова болезнь	Аутоиммунная деструкция (склерозирование) коркового вещества надпочечников; циркулирующие аутоантитела к стероидсекретирующим клеткам
Идиопатический гипогонадизм	Аутоиммунная деструкция (склерозирование) гонад; циркулирующие аутоантитела к стероидсекретирующим и гаметопродуцирующим клеткам

<b>Иммуноэндокринный синдром</b>	<b>Иммунопатологический механизм</b>
Гипоталамические и гипоталамо-гипофизарные синдромы	Аутоиммунная деструкция различных гипоталамических и аденогипофизарных структур с парциальным или тотальным гипоипуитаризмом
Аутоиммунный полиэндокринный синдром	Аутоиммунная деструкция нескольких эндокринных и неэндокринных органов и тканей
<i>Б. Первичные аутоиммунные эндокринопатии с функциональными нарушениями эндокринных желез</i>	
Диффузный токсический зоб	Циркулирующие тиреостимулирующие аутоантитела к ТТГ-рецепторам с гиперплазией и гиперфункцией щитовидной железы
Идиопатический гипотиреоз	Циркулирующие аутоантитела к ТТГ-рецепторам с функциональной блокадой и атрофией тироцитов
Идиопатический гипопаратиреоз	Циркулирующие аутоантитела к ПТГ-рецепторам, блокирующие действие паратормона
Некоторые формы вторичного сахарного диабета	Циркулирующие аутоантитела к инсулиновым рецепторам, блокирующие действие инсулина
Спонтанно гипогликемические пароксизмы при вторичном сахарном диабете	Циркулирующие аутоантитела к инсулиновым рецепторам с эпизодами спонтанного освобождения последних от связи с антителами на фоне реактивной гиперинсулинемии
Вторичная аменорея	Циркулирующие аутоантитела к ФСГ-рецепторам, блокирующие действие ФСГ
<i>В. Вторичные обменно-эндокринные синдромы на фоне системной или реактивной иммунопатологии</i>	
Гиперкальциемия при плазмодипломе	Костнорезорбтивное и кальциймобилизующее действие медиаторов иммунных реакций
Гиперкальциемия при болезни Педжета и синдроме Бамбергеро-Мари	Дисфункция костных клеток, вызванная гуморальными субстанциями из поврежденных иммунокомпетентных клеток в очаге воспаления
Подострый тиреоидит с транзиторным гипертиреозом	Аутоиммунная деструкция тироцитов в результате индуцированного вирусом изменения их антигенной структуры

Окончание табл. 1.58

Иммуноэндокринный синдром	Иммунопатологический механизм
Послеродовой аутоиммунный тиреоидит	Индукцированная беременностью аутоиммунная атака тиреоцитов по типу тиреоидита де Кервена
Галакторея-аменорея при первичном гипотиреозе	Аутоиммунная деструкция или блокада щитовидной железы с реактивной гиперсекрецией тиролиберина и пролактина

*Примечание:* ТТГ — тиреотропный гормон; ПТГ — паратгормон, ФСГ — фолликулостимулирующий гормон.

В патогенезе аутоиммунных эндокринопатий выделяют predisposing, initiating и способствующие факторы. Появление аутоантител в крови больного является только следствием перечисленных причин. В клинической практике к эндокринопатиям, в патогенезе которых аутоиммунные процессы играют важную роль, относятся заболевания щитовидной железы, сахарный диабет, недостаточность надпочечников и др.

Полигландулярные эндокринопатии (ПГЭ) — заболевания, при которых две или более эндокринных железы являются гипер- или гиподисфункциональными в результате аутоиммунного процесса. В клинической практике наиболее часто встречаются две формы ПГЭ.

Полигландулярная эндокринопатия 1-го типа (ПГЭ-1) является аутосомно-рецессивным заболеванием, в основе которого лежит мутация в гене аутоиммунной регуляции (локализован на длинном плече 21-й хромосомы). ПГЭ-1 — педиатрическая патология, проявляющаяся комбинацией двух из следующих трех нарушений: гипопаратиреоз, недостаточность надпочечников и хронический мукозно-кожный кандидоз (у 73–100 % больных). У некоторых больных развивается только один синдром, могут встречаться другие эндокринные проявления, а также гепатиты (у 10–15 % пациентов), пернициозная анемия (у 12–15 %), мальабсорбция (у 18 %). У большинства больных выявляют следующие эндокринные нарушения:

- гиперпаратиреоз — 89 %;
- недостаточность надпочечников (болезнь Аддисона) — 60 %;
- недостаточность половых желез — 45 %;
- заболевания щитовидной железы — 12 %;
- инсулинозависимый сахарный диабет — 1–4 %.



ПГЭ-2 встречается у взрослых и проявляется аутоиммунной недостаточностью надпочечников и инсулинозависимым сахарным диабетом. У большинства больных выявляют следующие эндокринные нарушения:

- недостаточность надпочечников — 100 %;
- аутоиммунное заболевание щитовидной железы — 70 %;
- недостаточность половых желез — 5–50 %;
- инсулинозависимый сахарный диабет — 50 %.

Рациональное использование определения аутоантител для диагностики аутоиммунных заболеваний представлено в табл. 1.59.

### 1.9.1. Диагностика аутоиммунных заболеваний щитовидной железы

В патогенезе большинства заболеваний щитовидной железы (диффузный токсический зоб, токсический узловой зоб, первичный гипотиреоз и др.) решающую роль играют аутоиммунные процессы, поэтому диагностика их требует определения антитиреоидных антител. В настоящее время в диагностике используют определение:

- 1) тиреоидмикросомальных аутоантител;
- 2) антител к тиреоглобулину (ТГ);
- 3) аутоантител к тиреоидпероксидазе (ТПО);
- 4) аутоантител к рецепторам щитовидной железы.

#### 1.9.1.1. Тиреоидмикросомальные аутоантитела в сыворотке крови

У здоровых людей антитела не выявляются.

Определение антител к микросомальной фракции щитовидной железы используется для диагностики аутоиммунного тиреоидита и гипотиреоза, при которых уровень антител в крови повышается. Антитела к микросомам щитовидной железы образуют иммунные комплексы на поверхности клеток, активируют комплемент и цитотоксические лимфоциты, что приводит к разрушению клеток и формированию воспалительного процесса в щитовидной железе. Аутоантитела при тиреоидите являются органоспецифическими. Уровень их коррелирует с тяжестью воспалительного процесса и может быть использован в качестве прогностического признака. Под воздействием эффективной терапии титр антител снижается, но не восстанавливается.

ливается до нормы из-за нарушения иммунорегуляции. При тиреоидите могут образовываться активирующие антитела, усиливающие функцию железы путем блокировки тиреотропных рецепторов. Их фиксация на ТТГ-рецепторах вызывает клеточную активацию, выходящую из-под контроля, что приводит к гипертиреозу.

**Тиреоидмикросомальные аутоантитела** появляются при следующих заболеваниях: тиреоидите Хашимото, гипотиреозе, базедовой болезни, раке щитовидной железы, тиреотоксикозе, после хирургического лечения щитовидной железы, после приема препаратов радиоактивного йода, пернициозной анемии, синдроме Шмидта, коллагенозах.

### 1.9.1.2. Аутоантитела к тиреоглобулину в сыворотке крови

**Референтные величины аутоантител к ТГ в сыворотке крови 0–51 МЕ/мл.**

Аутоантитела к ТГ в сыворотке — это антитела к предшественнику гормонов щитовидной железы. Они связывают ТГ, нарушая синтез гормонов и вызывая тем самым гипотиреоз.

Определение антител к ТГ проводится для оценки выраженности аутоиммунных реакций при заболеваниях щитовидной железы. Повышение их уровня выявляется в большинстве случаев тиреоидита Хашимото, болезни Грейвса и идиопатической микседемы. В оценке результатов исследования важное значение имеет так называемая пограничная линия, которая составляет 70 МЕ/мл и используется для того, чтобы дифференцировать больных с эутиреоидным состоянием и больных с тиреоидитом Хашимото и болезнью Грейвса. У больных тиреоидитом Хашимото и болезнью Грейвса уровень антител к ТГ > 70 МЕ/мл встречается у 85 и 62 % больных соответственно. Специфичность этой границы для данных заболеваний составляет 97 % [Gerchard W., Keller H., 1986]. У 55–85 % больных аутоиммунным тиреоидитом уровень антител к ТГ повышается до 600 МЕ/мл и более. Отсутствие антител к ТГ у больных аутоиммунным тиреоидитом обусловлено либо наличием в крови комплексов тиреоглобулин–антитело, которые не реагируют с ТГ, либо образованием антител к другому антигену.

Антитела к ТГ обнаруживаются у больных раком щитовидной железы (в 45 % случаев) при наличии регионарных метастазов, пернициозной анемией (в 50 %), СКВ (в 20 % случаев).

В настоящее время могут быть определены антитела к трийодтиронину ( $T_3$ ) и тироксину ( $T_4$ ) — гормонам щитовидной железы, которые представляют собой субклассы антител к ТГ и имеют такое же диагностическое значение, как исследование антител к ТГ. Значительно повышенные или сниженные уровни свободных  $T_3$  и  $T_4$  в крови у пациентов с эутиреозом без клинических симптомов обычно указывают на наличие антител к  $T_3$  и  $T_4$ .

### 1.9.1.3. Аутоантитела к тиреопероксидазе в сыворотке крови

**Референтные величины аутоантител к ТПО в сыворотке крови 0–18 МЕ/мл.**

ТПО — гликопротеид — фермент, прочно связан с гранулярной эндоплазматической сетью эпителиальных клеток фолликулов щитовидной железы. Она осуществляет окисление йодидов в фолликулах до активного йода и йодирование тирозина. В ходе дальнейшего окисления пероксидазой происходит сопряжение моно- и дийодтирозинов с образованием различных йодтиронинов, из которых в количественном отношении преобладает  $T_4$ . В настоящее время установлено, что антитела к антигену микросомальной фракции и есть антитела к ТПО.

Определение уровня аутоантител к ТПО используется как маркер заболеваний щитовидной железы, вызванных аутоиммунными процессами. Уровень антител в крови всегда повышен при тиреоидите Хашимото, болезни Грейвса и идиопатической микседеме. Определение уровня аутоантител к ТПО в сыворотке крови может быть использовано как показатель риска развития послеродового тиреоидита.

При тиреоидите Хашимото в результате разрушения аутоантителами ТПО в фолликулах щитовидной железы нарушается обмен йода (его окисление до активного йода), что приводит к низкому содержанию йода в ТГ. Функция щитовидной железы снижается в основном за счет снижения секреции  $T_4$ .

При оценке полученных результатов исследования необходимо учитывать так называемую пограничную линию, которая составляет 18 МЕ/мл и используется для того, чтобы дифференцировать больных с эутиреоидным состоянием и больных с тиреоидитом Хашимото и болезнью Грейвса. У больных тиреоидитом Хашимото и болезнью

Грейвса уровень антител к ТПО  $> 18$  МЕ/мл встречается у 98 и 83 % больных соответственно. Специфичность этой границы для данных заболеваний составляет 98 % [Gerchard W., Keller H., 1986]. Обычно уровень антител к ТПО у больных тиреоидитом Хашимото и болезнью Грейвса составляет 100 МЕ/мл и выше.

В связи с тем что у больных аутоиммунным тиреоидитом может быть повышен уровень антител к ТПО и/или ТГ, для повышения надежности лабораторной диагностики целесообразно определять их в комплексе.

Повышение уровня антител к ТПО в крови может быть выявлено при тиреоидите Риделя, болезни Аддисона.

#### 1.9.1.4. Аутоантитела к ТТГ-рецепторам в сыворотке крови

Уровень аутоантител к ТТГ-рецепторам (тиреостимулирующие антитела) в сыворотке крови в норме составляет до 11 ЕД/л.

Рецептор ТТГ — гликопротеин с молекулярной массой 85 000 Да, локализованный на мембране тиреоцитов (и, возможно, клеток других органов и тканей). Он специфически связывает ТТГ гипофиза и обеспечивает реализацию его биологического действия. Удалось идентифицировать два эпитопа молекулы ТТГ-рецептора, состоящие из 24 и 29 аминокислотных остатков.

Аутоантитела к ТТГ-рецепторам можно разделить на четыре группы:

- 1) антитела, специфически конкурирующие с ТТГ за связывание с рецепторами тиреоцитов и способные оказывать на щитовидную железу стимулирующее влияние, аналогичное ТТГ (тиреостимулирующий иммуноглобулин, тиреостимулирующие антитела, гормониндуцирующие антитела);
- 2) антитела, связывающиеся с ТТГ-рецепторами с большей аффинностью, чем ТТГ (тиреоидный стимулятор длительного действия);
- 3) антитела, стимулирующие рост щитовидной железы, или иммуноглобулин, стимулирующий рост щитовидной железы; в настоящее время не установлено, связываются ли эти аутоантитела с одним и тем же эпитопом молекулы ТТГ-рецептора, что и гормониндуцирующие антитела (1-я группа);
- 4) антитела, блокирующие стимуляцию щитовидной железы ТТГ (связывающиеся с рецептором ингибирующие антите-



ла или тиреоидсвязывающиеся ингибирующие антитела); в результате клетки щитовидной железы становятся нечувствительными к ТТГ.

Причиной развития диффузного токсического зоба (болезнь Грейвса) считается появление в крови больных аутоантител, специфически конкурирующих с ТТГ за связывание с рецепторами тиреоцитов (1-й группы) и способных оказывать на щитовидную железу стимулирующее влияние, аналогичное ТТГ. Повышенный уровень антител к ТТГ-рецепторам выявляют у 80–100 % больных в начальной стадии болезни Грейвса, в дальнейшем — у 60 % больных. Высокий уровень аутоантител к ТТГ-рецепторам в крови больных с болезнью Грейвса на фоне лечения является прогностическим предвестником рецидива заболевания (чувствительность 85 % и специфичность 80 %). Фетоплацентарный перенос этих антител является одной из причин врожденного гипертиреоза у новорожденных, если мать страдает болезнью Грейвса. Аутоантитела к ТТГ-рецепторам в повышенных количествах могут быть обнаружены у больных с зобом Хашимото, при подостром тиреоидите [Ткачева Г. А. и др., 1983]. Уровень аутоантител прогрессивно снижается при медикаментозном лечении всех перечисленных заболеваний или после тиреоидэктомии, что может быть использовано для контроля за эффективностью проводимого лечения. Лечение прекращают только после достижения эутиреоза и нормализации уровня антител.

Антитела к ТТГ-рецепторам, относящиеся к 4-й группе, блокируют в тиреоцитах синтез йодсодержащих тиреоидных гормонов и обладают способностью подавлять действие ТТГ. Такие тиреоидингибирующие антитела вызывают гипоплазию и атрофию щитовидной железы и определяются у 15–20 % пациентов с аутоиммунным гипотиреозом.

За последние годы был уточнен антигенный состав тиреоидной ткани, открыты новые типы антитиреоидных аутоантител и оценена их роль в патогенезе заболеваний щитовидной железы (табл. 1.60). В связи с этим были пересмотрены показания к исследованию антител для диагностики заболеваний щитовидной железы. Для верификации аутоиммунных тиреопатий в настоящее время рекомендуют использовать только определение антител к антигену микросомальной фракции (антитела к ТПО), а антитела к ТГ — только для

мониторинга больных, оперированных по поводу высокодифференцированного рака щитовидной железы. Обладая способностью связываться с комплементом, антитела к ТПО принимают прямое участие в повреждении ткани щитовидной железы. Кроме того, в 64–90 % случаев они обнаруживаются в крови в повышенных титрах без одновременного увеличения уровня антител к ТГ, которые, по-видимому, не принимают первичного участия в инициации повреждения ткани щитовидной железы.

Таблица 1.60

**Распространенность аутоантител к антигенам щитовидной железы и их роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний**

Антитела	Общая популяция, %	Болезнь Грейвса, %	Аутоиммунный гипотиреоз, %	Иммунологическая роль
К ТГ	3	12–30	35–60	Нет
К микросомальному антигену/ТПО	10–15	45–80	80–99	Усиление фиксации комплемента
К ТТГ-рецептору	1–2	70–100	6–60	Стимуляция или блокада ТТГ-рецепторов
К Na <sup>+</sup> /I <sup>-</sup> -симпортеру	0	20	25	На 50–70 % нарушает захват I <sup>-</sup> <i>in vitro</i>

Клинические показания к исследованию антитиреоидных антител приведены ниже [Шилин Д. Е., 2002].

**Клинические показания к исследованию антитиреоидных антител**

#### 1. Антитела к ТГ.

Абсолютные показания: мониторинг послеоперационного лечения рака щитовидной железы обязательно в сочетании с исследованием ТГ (для исключения ложноотрицательного результата); при концентрации ТГ в сыворотке крови выше 2,5–3,0 мкг/л у пациентов, перенесших экстирпацию щитовидной железы, необходимо исключать наличие метастазов и/или рецидива рака.

## 2. Антитела к ТПО.

Абсолютные показания: диагностика болезни Грейвса, аутоиммунного тиреоидита при первичном гипотиреозе, прогноз риска гипотиреоза при изолированном повышении ТТГ, прогноз послеродового тиреоидита у женщин из группы высокого риска.

Относительные показания: дифференциальная диагностика аутоиммунного (лимфоцитарного) и подострого тиреоидита при транзиторном тиреотоксикозе, диагностика аутоиммунного тиреоидита при эутиреоидном диффузном или узловом зобе, прогноз гипотиреоза у лиц в группах высокого риска.

3. Антитела к ТТГ-рецепторам (тиреоидсвязывающие ингибирующие антитела).

Абсолютные показания: дифференциальный диагноз послеродового тиреоидита и болезни Грейвса при послеродовом тиреотоксикозе, прогноз риска фетального/неонатального тиреотоксикоза у женщин с предшествовавшей радиоаблацией щитовидной железы по поводу болезни Грейвса или на фоне текущей терапии тиронамидами.

Относительные показания: диагностика эутиреоидной офтальмопатии Грейвса (антитела к иммуноглобулинам, стимулирующим рост щитовидной железы, более чувствительны), расчет длительности терапии и риска рецидива у пациентов, получающих терапию по поводу болезни Грейвса (особенно у детей).

Повторное (в процессе лечения) исследование уровня антитиреоидных антител у больных с установленным аутоиммунным тиреоидитом проводить нецелесообразно, так как они не имеют прогностического значения в развитии заболевания. Пациентам с вероятным заболеванием щитовидной железы, в патогенезе которого аутоиммунные процессы играют важную роль, при отсутствии антител в крови при первичном обследовании показано повторное их определение в течение первого и второго года наблюдения.

### 1.9.2. Диагностика аутоиммунных повреждений поджелудочной железы

В настоящее время инсулинозависимый сахарный диабет (ИЗСД) рассматривается как аутоиммунное заболевание с деструкцией  $\beta$ -клеток островков поджелудочной железы, развивающееся под

действием факторов окружающей среды при генетической предрасположенности. При ИЗСД в крови больного можно выявить различные виды антител: к цитоплазме и поверхности островковых клеток, карбоксипептидазе, проинсулину, белковым транспортерам глюкозы и др. К индукторам аутоиммунного процесса при ИЗСД относятся вирусы Коксаки В, эпидемического паротита, энцефаломиелита, краснухи и др. Для подтверждения аутоиммунного характера повреждения  $\beta$ -клеток поджелудочной железы в клинической практике наибольшее распространение получили методы определения аутоантител к антигенам островковых клеток. Помимо аутоантител к цитоплазме и поверхности островковых клеток, при ИЗСД обнаруживаются антиядерные антитела к односпиральной ДНК и двуспиральной ДНК у 87 и 48 % больных соответственно [Huang S. V. et al., 1981].

#### 1.9.2.1. Аутоантитела к антигенам островковых клеток в сыворотке крови

Обнаружение аутоантител к антигенам островковых клеток имеет наибольшее прогностическое значение в развитии ИЗСД. Они появляются за 1–8 лет до клинической манифестации сахарного диабета. Их выявление позволяет клиницисту ставить диагноз преддиабета, подбирать диету и проводить иммунокорректирующую терапию. Такая терапия играет чрезвычайно важную роль, так как клинические симптомы инсулиновой недостаточности в виде гипергликемии и связанные с ней жалобы появляются при поражении 80–90 % инсулинпродуцирующих  $\beta$ -клеток поджелудочной железы и возможности проведения иммунокорректирующей терапии в этот период заболевания ограничены. Высокий уровень аутоантител к антигенам островковых клеток в доклинический период и в начале клинического периода заболевания постепенно снижается в течение нескольких лет, вплоть до полного исчезновения. Применение в лечении ИЗСД иммунодепрессантов также приводит к снижению уровня аутоантител. В зависимости от иммунологических особенностей ИЗСД выделяют тип А1, при котором частота выявления аутоантител после развития клинической картины достигает 90 %, а через год снижается до 20 %, и тип В1, когда длительная персистенция аутоантител наблюдается за несколько месяцев или лет до появления клинических симптомов диабета и сохраняется длительное время.

Определение уровня аутоантител к антигенам островковых клеток и инсулину может быть использовано для оценки степени риска возникновения ИЗСД на протяжении 5 лет у родственников 1-й степени родства. В случае наличия уровня аутоантител к антигенам островковых клеток более 20 ед. риск возрастает почти в 8 раз и составляет 37 %, при сочетании аутоантител к антигенам островковых клеток и инсулину он достигает 50 % [Аметов А. С., Доскина Е. В., 2000].

### 1.9.2.2. Антитела к инсулину в сыворотке крови

Для выявления аутоантител класса IgG к инсулину в сыворотке используется метод ИФА. Длительная инсулинотерапия обычно вызывает увеличение количества циркулирующих антител к вводимому препарату инсулина у больных ИЗСД. Антитела к инсулину в крови больных являются причиной инсулинорезистентности, которая зависит от количества и концентрации антител. У большинства больных высокий уровень антител к гормону оказывает существенное влияние на фармакокинетику вводимого инсулина. Уровень выявляемых в крови антител к инсулину является важным диагностическим параметром, позволяющим лечащему врачу проводить коррекцию инсулинотерапии и целенаправленное иммуносупрессивное лечение. Вместе с тем не всегда имеется прямая зависимость между уровнем антител и степенью резистентности к инсулину. Чаще всего явления инсулинорезистентности возникают при введении недостаточно очищенных препаратов бычьего инсулина, которые содержат проинсулин, глюкагон, соматостатин и другие примеси. Для предотвращения развития инсулинорезистентности используют моновидовые высокоочищенные инсулины (главным образом, свиной), которые не вызывают образования антител. Антитела к инсулину могут обнаруживаться в крови больных, леченных не только инсулином, но и пероральными антидиабетическими препаратами группы сульфонилмочевины, в частности букарбапом, глибенкламидом [Халилова И. С. и др., 1993].

Титр антител к инсулину может быть повышен у 35–40 % больных с впервые выявленным сахарным диабетом (т. е. не леченных инсулином) и почти у 100 % детей в течение 5 лет со времени проявления ИЗСД. Это связано с гиперинсулинемией, имеющей место в начальной стадии заболевания, и реакцией иммунной системы.

Поэтому определение антител к инсулину может быть использовано для диагностики начальных стадий диабета, его дебюта, стертых и атипичных форм (чувствительность — 40–95 %, специфичность — 99 %) [Rich R. R. et al., 2001]. Спустя 15 лет от начала заболевания антитела к инсулину выявляются только у 20 % пациентов.

В исследованиях последних лет был найден основной антиген, представляющий собой главную мишень для аутоантител, связанных с развитием ИЗСД. Этим антигеном оказалась декарбоксилаза глутаминовой кислоты (GAD) — мембранный фермент  $\beta$ -клеток поджелудочной железы. Антитела к GAD — это очень информативный маркер для диагностики предиабета, а также выявления лиц с высоким риском развития ИЗСД (чувствительность — 70 %, специфичность — 99 %). Повышенный уровень антител к GAD может быть выявлен у пациентов за 7–14 лет до клинического проявления болезни. Со временем уровень антител к GAD у больных ИЗСД снижается, и спустя годы антитела обнаруживаются только у 20 % больных. Антитела к GAD выявляют у 60–80 % пациентов с сахарным диабетом типа 1, их обнаружение у больных сахарным диабетом типа 2 свидетельствует о вовлечении аутоиммунных механизмов в патогенез заболевания и служит показанием для проведения иммунокорректирующей терапии.

### 1.9.3. Диагностика аутоиммунных повреждений надпочечников

В случае идиопатической формы болезни Аддисона очень важным является обнаружение надпочечниковых аутоантител. Выявление аутоантител даже при нормальном уровне кортизола, альдостерона и повышенном содержании адренокортикотропного гормона (АКТГ) в крови свидетельствует о скрытой надпочечниковой недостаточности. Своевременное обнаружение надпочечниковых аутоантител способствует ранней диагностике нарушений функции коры надпочечников. При аутоиммунном генезе болезнь Аддисона часто сочетается с симптомами других заболеваний аутоиммунного генеза, таких как аутоиммунный гипотиреоз, гипопаратиреоз, сахарный диабет, гипофункция яичников, заболевания желудочно-кишечного тракта. Возможны случаи развития надпочечниковой недостаточности при наличии антител к рецепторам АКТГ.

### 1.9.3.1. Антитела к надпочечникам в сыворотке крови

Антитела к надпочечникам направлены против микросомальных структур клеток коры надпочечников. Они принадлежат к иммуноглобулинам класса G, обладают органоспецифичностью и чаще встречаются у женщин. Определение антител в сыворотке крови используется для установления патогенетических механизмов развития первичной атрофии надпочечников. Антитела выявляются у 38–60 % больных идиопатической болезнью Аддисона [Rose N. R. et al., 1997]. С течением времени уровень антител при болезни Аддисона может изменяться, т. е. они могут исчезать. Антитела к адреналовым антигенам могут выявляться у 7–18 % пациентов с туберкулезной этиологией болезни Аддисона и у 1 % пожилых больных.

### 1.9.4. Диагностика аутоиммунных заболеваний репродуктивной системы

Физиологическое истощение фолликулов яичников происходит у женщин в возрасте 40–55 лет. Если функция яичников прекращается до 40 лет, то это свидетельствует о заболевании, известном как преждевременная недостаточность яичников. Это заболевание возникает у 4–10 % женщин. По своему происхождению преждевременная недостаточность яичников бывает врожденной и приобретенной. Этиологическими факторами приобретенной недостаточности являются аутоиммунные нарушения, идиопатические причины, химиотерапия, облучение, хирургические операции и травмы, инфекции [Потемкин В. В., 1999]. Клиническими и лабораторными признаками преждевременной недостаточности яичников являются аменорея, повышенный уровень ФСГ и сниженный уровень эстрадиола в сыворотке крови. Следствием преждевременной недостаточности яичников является бесплодие. Для определения правильной тактики лечения больных важное значение имеет установление этиологического фактора заболевания. В ряде случаев таким фактором может быть аутоиммунный процесс, связанный с образованием антител к половым клеткам яичников.

Под бесплодием у мужчин следует понимать неспособность к оплодотворению независимо от возможности совершения полового акта. Заболевания у мужчин примерно в 40 % случаев являются причиной бесплодных браков, и число таких браков в различных

странах составляет 10–15% [Дедов И. И., 2000]. В некоторых случаях развитие бесплодия обусловлено наличием в сыворотке крови или в семенной плазме специфических антител.

#### 1.9.4.1. Овариальные антитела в сыворотке крови

**В норме в сыворотке крови овариальные антитела отсутствуют.**

Овариальные антитела (к антигенам стероидных клеток яичников) впервые были обнаружены у женщин при преждевременной менопаузе, бесплодии и при оплодотворении *in vitro*. Эта группа антител может включать в себя антитела к клеткам Лейдига, гранулезным клеткам яичников и плацентарным синцитиотрофобластам. Для определения антител к половым клеткам используются методы НИФ и ИФА (позволяют определять суммарные антитела и антитела различных классов иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA) отдельно). Эти антитела могут быть обнаружены в крови женщины за много лет до развития клинических проявлений преждевременной недостаточности яичников.

Помимо овариальных антител метод ИФА позволяет выявлять антитела к прозрачной оболочке ооцита (*zona pellucida*) — суммарные и к различным классам иммуноглобулинов (IgM, IgG, IgA) отдельно, которые имеют такое же диагностическое значение, как и овариальные антитела.

#### 1.9.4.2. Антиспермальные антитела в сыворотке крови

**В норме в сыворотке крови антиспермальные антитела отсутствуют.**

У мужчин антиспермальные антитела образуются в результате аутоиммунной реакции на свой собственный сперматогенный эпителий. Этиологическими факторами, способствующими развитию такой реакции, могут быть травма яичка, бактериальные и вирусные инфекции, хирургические операции на яичке (например, после вазэктомии антиспермальные антитела выявляют у всех мужчин), в ряде случаев причину установить невозможно [Meinertz H., Hjort T., 1995]. Для определения антиспермальных антител длительное время использовались метод агглютинации и комплементзависимый иммобилизационный тест, в настоящее время применяют метод ИФА, который отличается большей чувствительностью и специфичностью, а также позволяет определять антитела трех классов — IgA,



IgM и IgG. Исследование антиспермальных антител различных классов позволяет количественно оценить остроту и выраженность аутоиммунного процесса; кроме того, у мужчин уровень антител в сыворотке крови коррелирует с прогнозом в отношении будущей фертильности [Йена С. С. К., Джаффе Р. Б., 1998].

У женщин в норме антитела против антигенов сперматозоидов не вырабатываются, однако различные этиологические факторы (например, инфекции, аутоиммунные заболевания) могут приводить к потере иммунологической толерантности. В настоящее время все большее распространение получает точка зрения, согласно которой распознавание антигенов сперматозоидов иммунной системой женщины имеет важное значение для нормального оплодотворения и развития плода на ранних стадиях беременности. В норме при отсутствии антител в крови под действием антигенов сперматозоидов иммунокомпетентные клетки беременной женщины продуцируют цитокины, которые способствуют формированию трофобласта, росту и формированию плаценты, имплантации. Если в крови женщины имеются антиспермальные антитела, эти процессы нарушаются, что приводит к прерыванию беременности, гестозу, задержке развития плода, фетоплацентарной недостаточности [Marshburn P. B., Kutteh W. H., 1994]. У женщин выявить четкую корреляцию между уровнем антител в сыворотке крови и прогнозом в отношении фертильности обычно не удается [Йена С. С. К., Джаффе Р. Б., 1998].

Антиспермальные антитела к поверхностным антигенам сперматозоидов обнаруживаются не только в сыворотке крови, но и в шейечной слизи, где они могут повреждать или агглютинировать сперматозоиды, что препятствует слиянию сперматозоида с яйцеклеткой и зачатию.

Ряд авторов рекомендуют проводить исследование на антиспермальные антитела у всех пар с необъяснимыми причинами бесплодия.

### 1.9.5. Диагностика аутоиммунных заболеваний печени

Аутоиммунные механизмы играют важную роль в патогенезе целого ряда заболеваний печени: хронического активного гепатита, хронического аутоиммунного гепатита, первичного билиарного цирроза печени, первичного склерозирующего холангита, аутоиммунного

холангита. Важным признаком нарушенного состояния иммунитета при хронических активных заболеваниях печени служит появление в крови аутоантител, реагирующих с различными антигенными компонентами клеток и тканей.

Аутоиммунный хронический гепатит (вариант хронического активного гепатита) представляет собой гетерогенную группу прогрессирующих воспалительных заболеваний печени. Синдром аутоиммунного хронического гепатита характеризуется клиническими симптомами воспаления печени, продолжающимися более 6 мес., и гистологическими изменениями, включающими в себя молекулные некрозы и инфильтраты портальных полей. Для аутоиммунного хронического гепатита характерно наличие следующих факторов:

- заболевание встречается преимущественно у молодых женщин (85 % всех случаев);
- изменения в результатах традиционных лабораторных показателей проявляются в виде ускоренной СОЭ, умеренно выраженной лейкопении и тромбоцитопении, анемии смешанного генеза — гемолитической (положительная прямая проба Кумбса) и перераспределительной;
- изменения в результатах печеночных проб, свойственные гепатиту (билирубин повышен в 2–10 раз, активность трансаминаз — в 5–10 раз и более, коэффициент де Ритиса меньше 1, уровень щелочной фосфатазы повышен незначительно или умеренно, наблюдается повышение уровня  $\alpha$ -фетопротеина, коррелирующее с биохимической активностью заболевания);
- гипергаммаглобулинемия с превышением нормы в 2 раза и более (обычно поликлональная с преимущественным повышением IgG);
- отрицательные серологические маркеры гепатита А и В;
- отсутствие РНК вируса гепатита С;
- отрицательный или низкий титр антител к митохондриям.

У больных аутоиммунным хроническим гепатитом начальное поражение печени, пока неизвестной этиологии, включает аутоиммунный механизм как основной вследствие генетически обусловленного дефекта Т-супрессоров на собственные печеночно-специфические липопротеины и антигены мембраны гепатоцитов. В результате Т-клеточной стимуляции происходит активация

В-лимфоцитов, вызывающая продукцию антител к мембранному антигену. Эти антитела, связываясь с поверхностью гепатоцитов, создают условия для развития антителозависимого цитолиза, опосредуемого Т-киллерами.

К аутоиммунным заболеваниям печени относится и первичный билиарный цирроз (ПБЦ) печени, проявляющийся в виде малосимптомного хронического деструктивного негнойного холангита, далее проходящего стадию холестаза, которая завершается формированием цирроза. Если прежде ПБЦ рассматривался как редкое заболевание, то в настоящее время его распространенность стала весьма значительной [Майер К. П., 1999]. Учащение диагностики ПБЦ объясняется внедрением в клиническую практику современных лабораторных методов исследований. Наиболее характерно для ПБЦ повышение уровня щелочной фосфатазы, обычно более чем в 3 раза (у части пациентов может быть в пределах нормы или незначительно повышена),  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы, лейцинаминопептидазы, 5-нуклеотидазы (отражают синдром холестаза). Уровень щелочной фосфатазы не имеет прогностического значения, но снижение ее уровня отражает положительный ответ на лечение. Активность аспартатаминоансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) умеренно повышены (активность трансаминаз, в 5–6 раз превышающая норму, не характерна для ПБЦ).

Первичный склерозирующий холангит (ПСХ) — хроническое холестатическое заболевание печени неизвестной этиологии, характеризующееся негнойным деструктивным воспалением, облитерирующим склерозом и сегментарной дилатацией внутри- и внепеченочных желчных протоков, приводящее к развитию билиарного цирроза печени, портальной гипертензии и печеночной недостаточности. Концепция ПСХ как аутоиммунного заболевания с генетической предрасположенностью основывается на выявлении семейных случаев ПСХ, сочетании ПСХ с другими аутоиммунными заболеваниями (наиболее часто — с неспецифическим язвенным колитом), нарушениях в клеточном и гуморальном иммунитете, выявлении аутоантител (антинуклеарных, к гладкой мускулатуре, цитоплазме нейтрофилов). Для ПСХ характерен стабильный синдром холестаза (обычно не менее чем двукратное повышение уровня щелочной фосфатазы), уровень трансаминаз в крови повышен у 90% больных (не более чем в 5 раз) [Ивашкин В. Т., Буеверов А. О., 2001].

Аутоиммунный холангит — хроническое холестатическое заболевание печени, обусловленное иммуносупрессией. Гистологическая картина ткани печени при данном заболевании практически аналогична ПБЦ печени, а спектр антител включает повышенные титры антинуклеарных (АНА) и антимитохондриальных антител. Аутоиммунный холангит, по-видимому, не является вариантом ПСХ [Henry J. B., 1996].

Впервые концепция аутоиммунных повреждений печени была подтверждена выявлением в сыворотке крови больных антиядерных антител (см. разд. 1.7.2 «Титр антител к нуклеарным антигенам в сыворотке крови»). Эти антитела выявляют в 50–70 % случаев активного хронического (аутоиммунного) гепатита и в 40–45 % случаев ПБЦ. Наличие АНА у больных с хроническим аутоиммунным гепатитом — один из основных показателей, позволяющих отличить это заболевание от затянувшегося вирусного гепатита [Подымова С. Д., 1993]. Вместе с тем в низких титрах антиядерные антитела могут встречаться у практически здоровых людей, и их титр увеличивается с возрастом. Они могут появляться после приема некоторых лекарств, таких как прокаинамид, метилдофа, отдельные противотуберкулезные и психотропные препараты. Очень часто титр антиядерных антител увеличивается у здоровых женщин при беременности.

В дальнейшем для подтверждения аутоиммунного характера повреждений печени и проведения дифференциальной диагностики различных форм аутоиммунного гепатита и ПБЦ были разработаны диагностические тесты, позволяющие определять антимитохондриальные антитела, антитела к гладкой мускулатуре, антитела к печеночно-специфическому липопротеину и антигенам мембраны печени, антитела к микросомальному антигену печени и почек, антитела к нейтрофилам и др.

Основным методом выявления антител при аутоиммунных заболеваниях печени является метод НИФ. Методика проведения исследования заключается в том, что на срезы тканей, содержащие соответствующие антигены, наносят сыворотку крови больного, в которой могут содержаться антитела к этому антигену. После отмывания несвязавшихся белков наносят меченую флуоресцин-изоцианатом антисыворотку против человеческого  $\gamma$ -глобулина. При наличии в сыворотке больного антител к соответствующему тканевому антигену выявляется специфическое свечение.

Недостатком метода НИФ является субъективность способа оценки результата анализа. В связи с этим за последние годы разработаны тест-системы для ИФА, в которых соответствующие антигены нанесены на специальный сорбент. Метод ИФА позволяет количественно выражать результаты исследований.

**1.9.5.1. Антимитохондриальные антитела в сыворотке крови**  
**Антимитохондриальные антитела методом НИФ в сыворотке крови в норме не определяются; при использовании метода ИФА нормальные значения — менее 20 МЕ/мл, 20–25 МЕ/мл — пограничные значения.**

Антимитохондриальные антитела (АМА) вырабатываются к антигену внутренней мембраны митохондрий. Антиген по структуре представляет собой липопротеин, участвующий в транспортных функциях мембраны. Имеющиеся в арсенале лабораторий диагностические тест-системы позволяют определять как суммарные АМА, так и их отдельные подтипы. Повышенный титр суммарных АМА (1:160 и выше) характерен для ПБЦ (более чем у 90 % больных). Очень небольшая часть больных ПБЦ оказывается АМА-отрицательной. При вторичном билиарном циррозе АМА выявляются в низких титрах или, чаще, совсем не определяются. Низкие титры АМА могут также наблюдаться при хроническом активном гепатите, хроническом аутоиммунном гепатите (до 20 % случаев), алкогольном или вирусном гепатите.

В настоящее время выделяют четыре подтипа АМА. Для ПБЦ специфичными считаются антитела к антигену митохондрий М-2 (представляет собой комплекс ферментов на внутренней мембране митохондрий). Наличие антител против М-2-антигена можно выявить тест-системами ИФА. Диагностическая чувствительность тест-систем в отношении выявления ПБЦ составляет 98 %, специфичность — 96 % [Майер К. П., 1999]. Это означает, что только 5 % больных ПБЦ не имеют в крови АМА М-2. Повышенным считается уровень АМА М-2 более 25 МЕ/мл [Patrick S. C. et al., 1997].

Наряду с антителами анти-М2 при ПБЦ встречаются, в большинстве случаев одновременно, антитела анти-М9, анти-М4 и анти-М8, которые реагируют с различными эпитопами мембраны митохондрий. Существует связь между профилем АМА и прогнозом ПБЦ. Изолированное обнаружение в сыворотке крови анти-М9

и/или анти-М2 коррелирует с хорошим прогнозом ПБЦ. Прогрессирующее течение заболевания отмечается у больных с анти-М2, анти-М4 и/или анти-М8 в сочетании с повышенным уровнем билирубина. Это означает, что с помощью профиля АМА можно идентифицировать неактивные (ранние) и активные (прогрессирующие) формы ПБЦ и, соответственно, выделять группы больных с низким и высоким риском.

#### 1.9.5.2. Антитела к гладкой мускулатуре в сыворотке крови

**Антитела к гладкой мускулатуре в сыворотке крови в норме не определяются.**

Антитела к гладкой мускулатуре (АГМ) представляют собой антитела к белку актину или неактиновым компонентам (тубулину, виментину, десмелину и скелетину) и появляются в ответ на повреждение гепатоцитов. Они относятся к IgG или IgM при наличии холестаза. АГМ обнаруживают методом НИФ. Субстратом для НИФ обычно служит ткань, содержащая гладкие мышцы человеческого или животного происхождения (гладкомышечный слой слизистой оболочки желудка крысы, гладкомышечный слой внешней оболочки желудка крысы, гладкомышечные элементы клубочков почки крысы, гладкомышечный слой сосудов почки крысы).

АГМ выявляют в 60–80 % случаев аутоиммунного (липоидного) гепатита (в титре 1:80 и выше), в 50 % случаев ПБЦ и не обнаруживают при СКВ и внепеченочных поражениях желчных путей [Комаров Ф. И. и др., 1995]. АГМ присутствуют у 70 % больных хроническим активным гепатитом и относятся к классу IgG.

АГМ обнаруживаются при остром вирусном гепатите и исчезают при выздоровлении. В ряде случаев АГМ могут быть обнаружены в низких титрах при инфекционном мононуклеозе, цитомегаловирусной инфекции, микоплазменной пневмонии, лимфопролиферативных заболеваниях, наркомании, у женщин, страдающих бесплодием, злокачественных новообразованиях и иногда у здоровых людей. У этих групп больных АГМ относятся к классу IgM.

#### 1.9.5.3. Антитела к печеночно-специфическому липопротеину в сыворотке крови

**Антитела к печеночно-специфическому липопротеину в сыворотке крови в норме не определяются.**

Антитела к печеночно-специфическому липопротеину (анти-LSP) определяются методом НИФ. LSP-антиген представляет собой гетерогенный материал из мембран гепатоцитов, содержащий 7–8 антигенных детерминант, некоторые из них печеночно-специфичны, другие — неспецифичны. Именно антитела к LSP вызывают аутоиммунную реакцию с развитием антителозависимого цитолиза гепатоцитов и провоцируют рецидив при отмене глюкокортикостероидов у больных хроническим аутоиммунным гепатитом. Наличие анти-LSP в сыворотке крови является отличительным признаком аутоиммунного гепатита и лишь в 5% случаев выявляется среди больных HBs-позитивным хроническим активным гепатитом. Однако в большом числе клинических наблюдений показано, что анти-LSP выявляются и при хронических заболеваниях печени вирусной этиологии (в 48–97% случаев) [Подымова С. Д., 1993].

#### **1.9.5.4. Антитела к микросомальному антигену печени и почек в сыворотке крови**

**Уровень антител к микросомальному антигену печени и почек в сыворотке крови в норме — менее 20 МЕ/мл, 20–25 МЕ/мл — пограничные значения.**

Антитела к микросомальному антигену печени и почек (ЛКМ) представляют собой гетерогенную группу аутоантител, которая на основании их антигенов-мишеней делится на три подтипа. Компонент цитохрома P-450IID6 с молекулярной массой 50 000 Да был идентифицирован как главный антиген для ЛКМ типа 1 (ЛКМ-1), ЛКМ-2 направлены к цитохрому P-450IC9 и обнаруживались у пациентов, принимавших fсгупаfen (диуретик тиениловой кислоты, в настоящее время не применяется), ЛКМ-3 были выявлены в сыворотке крови больных хроническим вирусным гепатитом D (обнаруживаются у 5–13% больных), но антиген до сих пор не идентифицирован [Henry J. B., 1996]. Они могут встречаться у пациентов с аутоиммунным гепатитом 2-го типа (у 10% больных) [Ивашкин В. Т., Буеверов А. О., 2001].

В основе определения уровня антител к микросомам печени и почек (ЛКМ-1) лежит метод ИФА. Это исследование является дополнением к уже существующим методам диагностики аутоиммунного гепатита.

Ряд исследователей предложили субклассификацию аутоиммунного гепатита в соответствии с серологическим профилем (табл. 1.61). Было выделено четыре типа аутоиммунного гепатита.

Таблица 1.61

## Профиль антител при аутоиммунном гепатите

Тип гепатита	Тип аутоантител			
	АНА	LKM-1	АГМ	Анти-ВГС
I	+	—	+	—
IIa	—	+	—	—
IIb	—	+	—	+
III	—	—	±	—
IV	—	—	+	—

Первый тип аутоиммунного гепатита характеризуется наличием АНА (у 70–80 % больных) и АГМ (у 50–70 % больных) нередко в сочетании с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами [Ивашкин В. Т., Буеверов А. О., 2001]. Хотя АМА являются чувствительным и специфичным маркером ПБЦ, но могут быть также обнаружены у 15 % пациентов с клиническими и гистологическими признаками аутоиммунного гепатита, включая случаи клинического улучшения в ответ на иммуносупрессивную терапию. Такие пациенты расцениваются как имеющие «синдром перекрытия» признаков аутоиммунного гепатита и ПБЦ. Титр АМА в этой подгруппе аутоиммунного гепатита редко бывает больше 1:40. Антигенная специфичность этих АМА подобна той, которая наблюдается при классическом ПБЦ (АМА М-2). В таких случаях проводится повторная биопсия и дальнейшее наблюдение за больным. Титр антител к асиалогликопротеиновому рецептору — гликопротеину плазматической мембраны гепатоцитов — коррелирует с активностью аутоиммунного гепатита 1-го типа. Это обусловлено тем, что тканевая экспрессия указанного рецептора наиболее выражена в перипортальной зоне, где обычно наблюдаются ступенчатые некрозы, отражающие активность заболевания [Ивашкин В. Т., Буеверов А. О., 2001].

Второй тип аутоиммунного гепатита, который характеризуется наличием антител к микросомам печени и почек (у 100 % больных), разделен на две подгруппы (подтипы 2a и 2b). Обычно пациенты со



2-м типом негативны по АНА и АГМ, но у них часто обнаруживаются антитела к микросомальной фракции цитовидной железы, ТГ и париетальным клеткам. Подтип 2a выявляют у молодых женщин, которые имеют большие титры анти-LKM-1 (основной диагностический маркер данного подтипа) и антител к цитозольному антигену печени (анти-LC-1), негативную серологическую реакцию на гепатит С и активное заболевание, реагирующее на кортикостероидную терапию. Подтип 2b бывает у более пожилых пациентов. Эти пациенты имеют низкие титры LKM-1, клинические проявления заболевания менее выражены, часто обнаруживаются антитела к вирусу гепатита С (анти-VГС); при лечении подтип 2b хуже реагирует на иммуносупрессивную терапию по сравнению с подтипом 2a. Наличие анти-VГС у больных хроническим аутоиммунным гепатитом 2-го типа является ложноположительным, при этом имеется зависимость между частотой ложноположительных результатов определения анти-VГС и концентрацией  $\gamma$ -глобулинов у таких пациентов. Чем выше концентрация  $\gamma$ -глобулинов в сыворотке крови, тем чаще обнаруживаются ложноположительные результаты исследования анти-VГС. В таких случаях необходимо определять РНК VГС в сыворотке крови или лимфоцитах (методом ПЦР). Ряд авторов приводят данные, что примерно у 3% больных VГС могут быть выявлены антитела к микросомам печени и почек, но их титр значительно ниже, чем у больных хроническим аутоиммунным гепатитом 2-го типа, у которых уровень IgA в сыворотке крови ниже, чем у больных 1-го типа заболевания. В ряде исследований приводятся данные о том, что аутоиммунный гепатит 2-го типа сопровождается развитием цирроза печени чаще, чем гепатит 1-го типа [МакНелли П. Р., 1998].

Третий тип аутоиммунного гепатита выделяют на основании обнаружения в сыворотке антител к растворимым печеночным антигенам (анти-SLA), в отношении которых совсем недавно показано, что они идентичны печеночно-панкреатическому антигену (LP). Анти-SLA/LP связываются с печеночными цитокератинами 8 и 18. Эти антитела образуются только при аутоиммунном гепатите и служат его важным серологическим маркером (имеют 100% специфичность, у 15% больных аутоиммунным гепатитом они являются единственными обнаруживаемыми антителами). В настоящее время разработаны тест-системы для детекции анти-SLA/LP, доступные в качестве рутинного исследования в лаборатории.

Высокие титры АГМ, направленные против F-актина, характеризуют 4-й тип аутоиммунного гепатита, который часто наблюдается у детей.

В последние годы у больных аутоиммунным гепатитом выявлены антитела к  $\beta$ -субъединице алкогольдегидрогеназы, отличающиеся по распознаваемому эпитопу от таковых при алкогольном поражении печени [Ma Y. et al., 2000].

Следует отметить, что выделение 4 типов хронического аутоиммунного гепатита не имеет большого клинического значения с точки зрения лечебной тактики, поскольку основная часть больных независимо от типа, к которому они принадлежат, хорошо отвечают на иммуносупрессивную терапию.

Диагноз хронического аутоиммунного гепатита считается точно установленным [Майер К. П., 1999], если:

- в сыворотке крови повышены титры АНА, АГМ, антител к LKM в титре более чем 1:80;
- концентрация IgG в сыворотке крови превышает верхнюю границу нормы в 1,5 раза;
- в анамнезе нет указаний на прием гепатотоксичных медикаментов и злоупотребление алкоголем;
- в сыворотке крови больных отсутствует РНК ВГС.

Для более точной диагностики аутоиммунного гепатита можно использовать балльную оценку всех показателей (табл. 1.62).

Таблица 1.62

**Диагностические критерии аутоиммунного гепатита  
[Rich R. R. et al., 2001]**

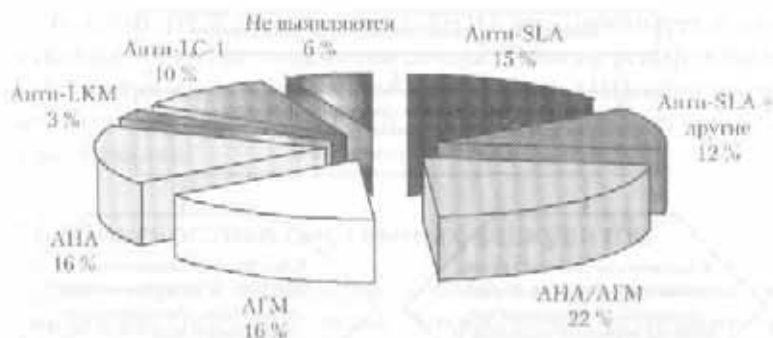
Критерий	Баллы
Пол: • мужской; • женский	0 +2
Отношение уровней сывороточной щелочной фосфатазы/АЛТ: • < 1,5; • 1,5–3,0; • > 3,0	+2 0 –2
Наличие аутоантител АНА, АГМ, LKM-1, титр: • > 1:80; • 1:80;	+3 +2

Окончание табл. 1.62

Критерий	Баллы
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 1:40;</li> <li>• &lt; 1:40</li> </ul>	+1 0
Наличие АМА	-4
Лекарственный анамнез: <ul style="list-style-type: none"> <li>• позитивный;</li> <li>• негативный</li> </ul>	-4 +1
Употребление алкоголя: <ul style="list-style-type: none"> <li>• &lt; 25 г в день;</li> <li>• &gt; 60 г в день</li> </ul>	+2 -2
Маркеры вирусных инфекций (включая антитела IgM к ВГА, HBsAg, антитела IgM к HBc — ядерному антигену гепатита В, обнаружение РНК ВГС методом ПЦР): <ul style="list-style-type: none"> <li>• положительные;</li> <li>• отрицательные</li> </ul>	-3 +3
Наличие других аутоиммунных заболеваний	+2
Гистология печени: <ul style="list-style-type: none"> <li>• ступенчатые некрозы и добулярный гепатит;</li> <li>• выраженная лимфоцитарная инфильтрация;</li> <li>• розеточные печеночные клетки;</li> <li>• ни одно из вышеприведенных изменений;</li> <li>• изменения желчных протоков;</li> <li>• другие изменения</li> </ul>	+3 +1 +1 -5 -3 -3
Дополнительные исследования: <ul style="list-style-type: none"> <li>• положительные результаты исследований других аутоантител;</li> <li>• наличие иммуногенетических маркеров: HLA-DR3 или DR4</li> </ul>	+2 +1
Ответ на иммуносупрессирующую терапию: <ul style="list-style-type: none"> <li>• полный;</li> <li>• ослабленный</li> </ul>	+2 +3

Итоговую оценку проводят следующим образом: при общей сумме баллов более 15 до лечения и более 17 после лечения наличие аутоиммунного гепатита можно считать установленным; при сумме баллов от 10 до 15 до лечения и от 12 до 17 после лечения наличие аутоиммунного гепатита возможно (нельзя исключить); при более низкой сумме баллов аутоиммунный гепатит исключается.

Частота обнаружения различных типов антител у больных аутоиммунным гепатитом представлена на рис. 1.4, а схема 1.9 отражает алгоритмы диагностики симптоматических и асимптоматических заболеваний печени [Manns M. P., Strassburg C. P., 2001].



**Рис. 1.4.** Частота обнаружения различных типов антител у больных с аутоиммунным гепатитом:

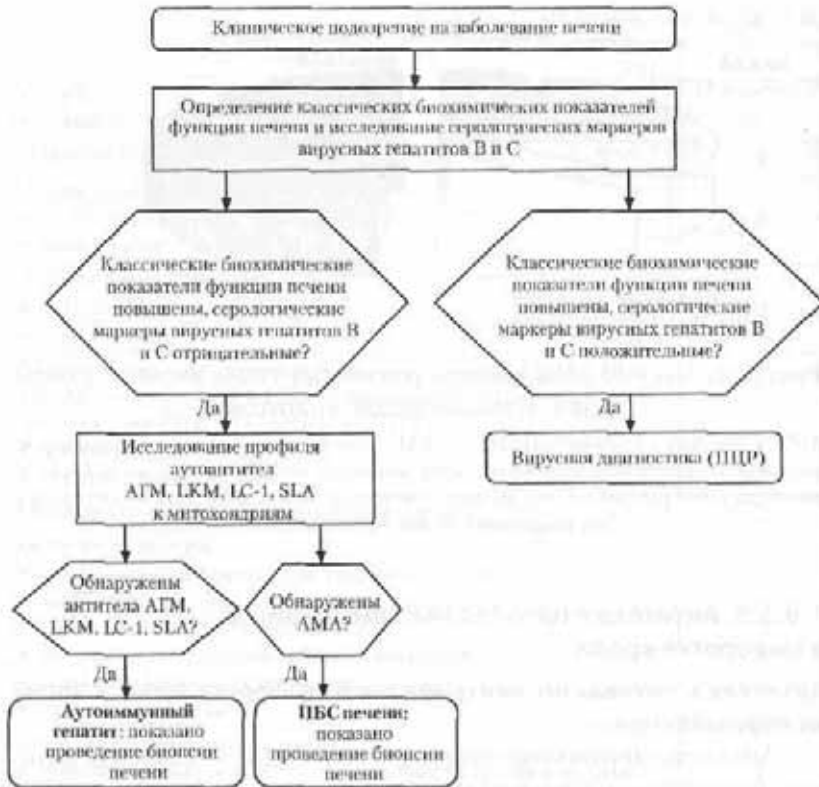
АНА — антиядерные антитела; АГМ — антитела к гладкой мускулатуре; анти-IC-1 — антитела к цитозольному антигену печени типа 1; анти-LKM — антитела к микросомальному антигену печени и почек; анти-SLA — антитела к растворимому печеночному антигену

#### 1.9.5.5. Антитела к цитоплазме нейтрофилов в сыворотке крови

**Антитела к цитоплазме нейтрофилов в сыворотке крови в норме не определяются.**

Антитела к цитоплазме нейтрофилов (АНЦА) — комплекс антител, специфичных к различным гранулоцитарным, моноцитарным и, возможно, эндотелиальным цитоплазматическим антигенам.

При определении АНЦА методом НИФ с использованием нейтрофилов здоровых доноров могут наблюдаться два различных типа флюоресценции — классический диффузный (к-АНЦА) и перинуклеарный (п-АНЦА). Эти типы флюоресценции обусловлены различной антигенной направленностью АНЦА. Антитела при классической диффузной флюоресценции в большинстве случаев направлены против протеинкиназы-3 и усиливающего бактерицидное действие белка нейтрофилов. При гранулематозе Вегенера к-АНЦА в сыворотке крови обнаруживают у 88–95% больных. Это высокоспецифичный признак данного заболевания. Диагностическая чувствительность метода составляет 90%, специфичность — более 95% [Лор-младший Г. и др., 2000]. Титр к-АНЦА повышается за несколько недель или месяцев до обострения заболевания и сни-



**Схема 1.9.** Алгоритм диагностики симптоматических и асимптоматических заболеваний печени

жается при достижении ремиссии. Обнаружение к-АНЦА в крови является прямым показанием для проведения иммуносупрессивной терапии.

п-АНЦА направлены против широкого спектра цитоплазматических антигенов: миелопероксидазе, эластазе, лактофerrину, катепсину G и другим полипептидам. Наиболее часто п-АНЦА выявляют при ПСХ (у 60–85 % больных), неспецифическом язвенном колите (у 60–75 %), хроническом аутоиммунном активном гепатите (у 60–70 %), ПБЦ (у 30–40 %), болезни Крона (у 10–20 % больных) [Kallenberg C., Mulder L., 1992].

У больных ПСХ присутствие п-АНЦА не коррелирует с клинической активностью поражения печени. Пока не решен вопрос, свидетельствует ли одновременное выявление п-АНЦА при неспецифическом язвенном колите и ПСХ о патогенетической взаимосвязи заболеваний.

### 1.9.6. Диагностика системных васкулитов

Васкулиты — группа заболеваний, в основе патогенеза которых лежит воспаление сосудистой стенки. Эти воспаления различаются по морфологической картине, общим для них является инфильтрация стенки сосудов клетками крови в виде скоплений или гранул (нейтрофилы, моноциты, лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги). Тканевые изменения проявляются набуханием, пролиферацией эндотелия, тромбозами, геморрагиями, некрозами. В связи с этим заболевания этой группы называют некротизирующими васкулитами.

Клинические проявления системных васкулитов трудно идентифицировать и верифицировать в виде четко определенных синдромов, поскольку нередко встречаются переходные формы или они развиваются в рамках других синдромов (васкулиты при опухолях, заболеваниях кишечника и печени, васкулиты после трансплантации, васкулопатия при АФС и др.).

С точки зрения роли различных иммунопатогенетических механизмов системные васкулиты делят на три основные группы [Насонова В. А., Бунчук Н. В., 1997].

1. Васкулиты, ассоциирующиеся с иммунными комплексами:
  - геморрагический васкулит (пурпура Шенлейна—Геноха);
  - криоглобулинемический васкулит;
  - васкулит при СКВ и ревматоидном артрите;
  - сывороточная болезнь;
  - инфекционные васкулиты;
  - паранеопластический васкулит;
  - болезнь Бехчета.
2. Васкулиты, ассоциирующиеся с органоспецифическими антителами:
  - синдром Гудпасчера (антитела к базальной мембране клубочков почки);
  - болезнь Кавасаки (антитела к эндотелию).

### 3. Васкулиты, ассоциированные с антителами к цитоплазме нейтрофилов:

- гранулематоз Вегенера;
- микроскопический полиартерит (полиангиит);
- синдром Чарга—Стросса;
- классический узелковый периаартерит (редко);
- некоторые лекарственные васкулиты.

Роль и значение иммунных комплексов в развитии системных васкулитов при СКВ и ревматоидном артрите (1-я группа) были изложены выше (см. разд. 1.3.1.5 «Циркулирующие иммунные комплексы в сыворотке крови», 1.3.1.8 «Криоглобулины в сыворотке крови», 1.7.12 «Ревматоидный фактор в сыворотке крови»).

Васкулиты 2-й группы тесно ассоциируются с определенными типами антител. Антитела к базальной мембране клубочков почки имеют высокую (более 90%) диагностическую чувствительность и специфичность для синдрома Гудпасчера (см. разд. 1.9.9 «Диагностика аутоиммунных заболеваний почек»). В последние годы получены подтверждения связи болезни Кавасаки с антителами к эндотелию.

АНЦА играют важную роль в развитии васкулитов, входящих в 3-ю группу. При изложении методов диагностики аутоиммунных заболеваний печени было показано, что АНЦА представляют собой комплексы антител к различным гранулоцитарным, моноцитарным и, возможно, эндотелиальным цитоплазматическим антигенам. По картине флюоресценции при определении АНЦА они делятся на два типа: 1) антитела при классической диффузной флюоресценции, направленные против протеинкиназы-3 (анти-ПРК3, на их долю приходится 85–90% всех антител этой группы) и белка, усиливающего бактерицидное действие нейтрофилов; 2) антитела при перинуклеарной флюоресценции, направленные против миелопероксидазы (на их долю приходится 90% всех антител этой группы), эластазы, лактоферрина, катепсина G и других полипептидов. Если для диагностики аутоиммунных заболеваний печени (особенно ПСХ) было достаточно определить суммарные антитела 2-го типа (п-АНЦА, см. разд. 1.9.5.5 «Антитела к цитоплазме нейтрофилов в сыворотке»), то для диагностики системных васкулитов и других ревматических заболеваний исследуют весь спектр антител к цитоплазме нейтрофилов. Для их выявления может быть использован как метод НИФ, так и ИФА. Вначале рекомендуется провести скрининговый тест на

выявление суммарных АНЦА в сыворотке крови пациента, а затем, при получении положительного результата, использовать тест-систему для конкретного отдельного антигена.

#### **1.9.6.1. Антитела к протеинкиназе-3 нейтрофилов в сыворотке крови**

**Антитела к протеинкиназе-3 нейтрофилов в сыворотке крови в норме не определяются.**

Протеинкиназа-3 представляет собой нейтральную сериновую протеазу, локализованную в азурофильных гранулах нейтрофилов. Анти-ПРК3 наиболее характерны для гранулематоза Вегенера, при котором они выявляются у 30–99 % больных. Антитела к ПРК-3 обнаруживают у 30–40 % больных с ограниченной или генерализованной формой гранулематоза Вегенера в период ремиссии, у 70–80 % больных в период активности и у 80–99 % больных с активными генерализованными формами заболевания. Диагностическая чувствительность анти-ПРК3 в отношении гранулематоза Вегенера колеблется от 30 до 99 %, специфичность достигает 98 % [Насонова В. А., Бунчук Н. В., 1997].

#### **1.9.6.2. Антитела к белку, усиливающему бактерицидное действие нейтрофилов, в сыворотке крови**

**Антитела к белку, усиливающему бактерицидное действие нейтрофилов, в сыворотке крови в норме не определяются при использовании метода НИФ; для метода ИФА cutoff для антител IgG равен 15 Е/мл.**

Белок, усиливающий бактерицидное действие нейтрофилов, — это мембранный протеин нейтрофилов и моноцитов. Его основная функция состоит в связывании эндотоксинов бактерий. Антитела к данному протеину наиболее часто обнаруживают при болезни Крона и язвенном колите. В некоторых случаях антитела к белку, усиливающему бактерицидное действие нейтрофилов, могут быть выявлены при хронических инфекционных заболеваниях различной этиологии.

#### **1.9.6.3. Антитела к миелопероксидазе нейтрофилов в сыворотке крови**

**Антитела к миелопероксидазе нейтрофилов в норме в сыворотке крови не определяются.**



Миелопероксидаза представляет собой белок с молекулярной массой 59 000 Да, который является одним из основных факторов, обеспечивающих бактерицидную защиту человека. Антитела к миелопероксидазе нейтрофилов могут обнаруживаться при васкулитах, микроскопическом полиангиите (в 60–65 % случаев), синдроме Черга—Стросса (в 17–20 %), ревматоидном артрите, СКВ, синдроме Гудпасчера.

Антитела к эластазе выявляются при эмфиземе легких, ревматоидном артрите и некоторых других ревматических болезнях, к катепсину G — при СКВ, синдромах Шегрена и Фелти.

Антитела к лизоциму могут быть обнаружены при ревматоидном васкулите, язвенном колите (cutoff для антител IgG методом ИФА — 15 Е/мл), к лактофerrину — при ПСХ, ревматоидном и язвенном колитах (cutoff для антител IgG методом ИФА — 15 Е/мл). В табл. 1.63 представлена частота обнаружения различных видов антител при васкулитах.

Таблица 1.63

**Частота обнаружения различных видов антител при васкулитах [Johnson R. J., Feehally J., 2000]**

Вид антител	Частота обнаружения антител, %		
	Васкулит		
	гранулематоз Вегенера	микроскопический полиангиит	синдром Черга—Стросса
АНЦА	85–95	75–95	65–75
Анти-PR3	75–80	25–35	10–15
Антитела к миелопероксидазе	10–15	50–60	55–60

#### 1.9.6.4. Антитела к эндотелию в сыворотке крови

Антитела к эндотелию в сыворотке крови в норме не определяются.

Антитела к эндотелию сосудов довольно часто обнаруживают при васкулитах, особенно при болезни Кавасаки. Предполагается, что антитела к эндотелию могут повреждать клетки эндотелия посредством комплементзависимого цитолиза или антителозависимой клеточной цитотоксичности. При болезни Кавасаки антитела к эндотелию вырабатываются на антиген Кавасаки (возможно, вирус),

локализованный на мембране эндотелия. Известны две популяции антител, одна из которых лизирует клетки эндотелия, обработанные  $\gamma$ -интерфероном, а вторая — клетки, пресинкубированные с IL-1 и TNF- $\alpha$  [Насонова В. А., Буигчук Н. В., 1997]. Эти данные позволили высказать предположение, что под действием цитокинов могут развиваться три основные формы эндотелиального повреждения, которые определяются как дисфункции эндотелия, его оголение и фокальный клеточный некроз.

Антитела к эндотелию выявляют у 15–85 % больных СКВ, у 10–87 % — ревматоидным артритом, у 30 % — системной склеродермией и, реже, при ее варианте — CREST-синдроме [Пьер Юну и др., 1995]. При первичном синдроме Шегрена обнаружение антител к эндотелию ассоциируется с периферической нейропатией, а при полимиозите/дерматомиозите — с интерстициальным поражением легких. При СКВ и у больных с АФС обнаружение антител к эндотелию коррелирует с гиперпродукцией антител к кардиолипину, поражением почек, тромботическими нарушениями и поражением клапанов сердца.

### 1.9.7. Диагностика аутоиммунных повреждений миокарда

В последние годы активно изучается роль инфекционно-иммунных механизмов в патогенезе кардиомиопатий. Кардиомиопатия представляет собой сборное понятие, охватывающее группу тяжелых прогрессирующих поражений миокарда, различающихся по этиологии и патогенезу и объединенных сходством клинических проявлений. Идиопатическая дилатационная кардиомиопатия (ДКМП) — наиболее распространенная форма кардиомиопатий неясного происхождения, морфологически характеризующаяся резко выраженным расширением (дилатацией) всех камер сердца без значительного изменения толщины стенок желудочков, при этом характерен диффузный интерстициальный фиброз миокарда. Главным гемодинамическим нарушением при ДКМП является неуклонное снижение инотропной функции сердца, в основном за счет потери систолической функции левого желудочка. Согласно точке зрения Е. Л. Насонова [1990], развитие ДКМП связано с вирусиндуцированными иммунопатологическими реакциями против кардиомиоцитов. По данным

автора, различные инфекционные агенты, такие как вирусы, вызывают аутоиммунные реакции, которые прогрессирующе разрушают ткань миокарда и приводят к ДКМП. Данные о дисбалансе между Т-хелперами (CD4) и Т-супрессорами (CD8), а также присутствие в крови органоспецифических аутоантител при ДКМП подтверждают гипотезу [Magnusson Y. et al., 1994]. В настоящее время в сыворотке крови больных с ДКМП обнаруживают аутоантитела к различным сердечным структурам: к митохондриальному АДФ/АТФ-переносчику, ламинину, тяжелой цепи миозина, М7-антигену, но наиболее часто выявляют аутоантитела к  $\beta$ -адренорецепторам.

При миокардите помимо аутоантител необходимо исследовать уровень тропонина Т (I) и провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$ , IL-2.

#### 1.9.7.1. Антитела к $\beta_1$ -адренорецепторам в сыворотке крови

**Антитела к  $\beta_1$ -адренорецепторам в сыворотке крови в норме не определяются.**

Мембраны кардиомиоцитов человека содержат в основном  $\beta_1$ -адренорецепторы ( $\beta_1$ -АР), через которые осуществляется симпатическая иннервация сердца.  $\beta_1$ -АР представляют собой гликопротеин (содержит 477 аминокислотных остатков) с молекулярной массой около 65 000 Да. Функционально  $\beta_1$ -АР сопряжены с гуанидинуклеотидрегуляторными белками (G-белками) и являются важным компонентом клеточной системы сигнальной трансдукции. После связывания эндогенного катехоламина (норадреналина) или экзогенного  $\beta$ -агониста  $\beta_1$ -АР активируют стимуляторный G-белок, который в свою очередь приводит к активации аденилатциклазы, накоплению в клетке цАМФ и усилению инотропной функции миокарда.

Аутоантитела к  $\beta_1$ -АР относятся к иммуноглобулинам класса G и способны связывать рецепторы. Они обнаруживаются в сыворотке крови примерно у 30 % больных с идиопатической ДКМП [Рулева Н. Ю. и др., 2001]. Потенциальная роль аутоантител к  $\beta_1$ -АР в патогенезе ДКМП в настоящее время находится на стадии активного изучения. Определенная роль аутоантител к  $\beta_1$ -АР в возникновении ДКМП подтверждается взаимосвязью между наличием аутоантител и функциями миокарда (удаление аутоантител из крови посредством иммуноадсорбции вызывает улучшение гемодинами-

ческих показателей). Совсем недавно было показано, что наличие аутоантител при ДКМП напрямую связано со значительно сниженной сократительной функцией левого желудочка [Jahns R. et al., 1999]. В. И. Шумаков и соавт. [1999] выявили хорошую корреляцию высокого титра аутоантител к  $\beta_1$ -АР с тяжестью состояния больных с ДКМП. Определение уровня аутоантител к  $\beta_1$ -АР может быть рекомендовано в качестве маркера для мониторингования течения и прогноза исхода ДКМП.

### 1.9.8. Диагностика аутоиммунных заболеваний нервной системы

К заболеваниям нервной системы, в возникновении которых участие аутоиммунных механизмов в настоящее время доказано, относятся миастения и рассеянный склероз.

Миастения является синаптической болезнью, в основе которой лежит блок нервно-мышечной холинергической передачи вследствие связывания постсинаптических холинорецепторов аутоантителами. Результатом блокады холинорецепторов является патологическая утомляемость мышц.

Рассеянный склероз — хроническое прогрессирующее заболевание ЦНС, проявляющееся рассеянной неврологической симптоматикой. Обычно заболевание начинается в молодом возрасте и патоморфологически характеризуется образованием очагов разрушения миелина (демиелинизация) в белом веществе головного и спинного мозга. Аутоиммунные механизмы имеют большое значение в патогенезе рассеянного склероза. Несмотря на то что до сих пор не определено, первичны или вторичны аутоиммунные реакции при этом заболевании, считается доказанным, что они непосредственно участвуют в разрушении миелина и нарушении проведения нервного импульса.

Периферическая нервная система состоит из аксонов, формирующих периферические и черепные нервы, а также тел нейронов, лежащих в передних и боковых рогах спинного мозга, двигательных и чувствительных ядрах черепных нервов, спинномозговых узлах, вегетативных узлах симпатической и парасимпатической частей нервной системы. Морфологической основой повреждений периферической нервной системы являются аксональная дегенерация,

сегментарная демиелинизация и первичные поражения тел нервных клеток. Поражение тел нейронов называют нейропатией, а все формы заболевания периферических нервов обозначаются общим термином «невропатия», которые разделяют на моно- (поражение одного нерва, нервного корешка или части нервного сплетения) и полиневропатии (поражения нескольких периферических нервов). При нейропатиях основные патологические изменения происходят в телах клеток передних рогов (моторные нейропатии) или спинальных ганглиев (сенсорные нейропатии).

Нейропатии по своему происхождению могут быть врожденными, инфекционными или аутоиммунными. Диагностика нейропатий вызывает значительные трудности, так как они имеют сходные клинические проявления, кроме того, разные синдромы имеют отличный прогноз и требуют дифференцированного подхода к лечению. К нейропатиям, в возникновении которых роль аутоиммунного механизма доказана, относят классический синдром Гийена—Барре — острую воспалительную демиелинизирующую полирадикулоневропатию — и его варианты: острую моторную аксональную невропатию, острую сенсорную аксональную невропатию, сверхострый синдром Гийена—Барре и синдром Миллера Фишера.

#### 1.9.8.1. Антитела к рецептору ацетилхолина в сыворотке крови

**Референтные величины антител к рецептору ацетилхолина в сыворотке крови менее 0,03 нмоль/л.**

Рецепторы ацетилхолина (РАХ) локализованы в постсинаптической мембране скелетной мускулатуры. Их основная функция состоит в передаче нервного импульса с пресинаптической мембраны на мышечные волокна. Возникновение нервного импульса приводит к деполяризации пресинаптической мембраны и поступлению  $Ca^{2+}$  в терминали через потенциалзависимые кальциевые каналы, где  $Ca^{2+}$  посредством синаптоагмина обеспечивает взаимодействие мембраны синаптических везикул с пресинаптической мембраной и приводит к выделению ацетилхолина из везикул в синаптическую щель. Ацетилхолин взаимодействует с РАХ и формирует потенциал действия для мышечного волокна.

Важным открытием, проливающим свет на патогенетические аутоиммунные механизмы нарушения нервно-мышечной переда-

чи, послужило обнаружение антител к PACH (анти-PACH) [Almon R. et al., 1974]. Анти-PACH могут блокировать доступ ацетилхолина к рецепторам, стимулируют комплемент-опосредованный лизис постсинаптической мембраны нервно-мышечного соединения, увеличивают скорость деградации PACH. Анти-PACH направлены на ряд детерминант, находящихся в разных местах большой молекулы PACH. Установлено, что в сыворотке крови больных генерализованной и глазной формами миастении обнаруживаемые антитела обладают различными характеристиками.

Уровень анти-PACH повышен у 90 % больных генерализованной миастенией (средний титр  $4,8 \pm 0,5$  нмоль/л), у 63 % — при глазной миастении ( $1,2 \pm 0,11$  нмоль/л), у 58 % — при ремиссии ( $0,9 \pm 0,67$  нмоль/л) [Тиц Н., 1997]. Значения анти-PACH выше 0,25 нмоль/л обладают 95 % специфичностью в отношении диагностики генерализованной миастении, а величины выше 0,4 нмоль/л однозначно указывают на наличие этого заболевания. В большинстве случаев уровень анти-PACH в крови коррелирует с тяжестью течения миастении. Этот тест чувствительнее электромиографии в отношении диагностики миастении. Повышенный уровень анти-PACH в крови при отсутствии клинических проявлений может указывать на субклиническую миастению или положительную реактивность по отношению к курареподобным препаратам и некоторым антибиотикам. Эффективная иммуносупрессивная терапия сопровождается снижением уровня анти-PACH.

Уровень анти-PACH повышен у 59 % больных с тимомой, сочетающейся с миастенией. Такое сочетание наиболее часто встречается у больных в возрасте 50–59 лет. В отдельных случаях уровень анти-PACH может быть повышен при боковом амниотрофическом склерозе.

Если уровень анти-PACH не повышен у пациентов с клиническими подозрениями на наличие миастении, в качестве тестов второго и третьего уровня проводят определение блокирующих и модулирующих антител к холинорецепторам. Тест определения модулирующих антител более чувствителен.

У большинства больных миастенией обнаруживают повышенный уровень антител к скелетной мышце и миозину, которые тесно коррелируют с тяжестью течения заболевания и эффективностью проводимого лечения. После тимэктомии значительное уменьше-

ние уровня антител к скелетной мышце отмечается у 90 % больных [Кузин М. И., Гехт Б. М., 1996].

### 1.9.8.2. Антитела к основному белку миелина в сыворотке крови

Уровень антител к основному белку миелина в сыворотке крови в норме: у детей (5 мес. — 11 лет) —  $16,7 \pm 1,5$  мкг/мл, у взрослых (12—70 лет) —  $29,9 \pm 3,0$  мкг/мл методом ИФА [Воробьева Н. Л., 1998].

Антитела к основному белку миелина (анти-ОБМ) обладают выраженным миелолитическим и миелотоксическим действием. Метод ИФА позволяет выявлять анти-ОБМ класса IgG в сыворотке крови. У больных с демиелинизирующей патологией уровень анти-ОБМ в крови значительно повышается, причем наибольшее их содержание характерно для рассеянного склероза. Имеется четкая зависимость между уровнем антител и характером течения заболевания. Для прогрессирующего течения рассеянного склероза характерен более высокий уровень анти-ОБМ в крови, чем для больных с ремиттирующим течением. У больных с длительностью заболевания менее 5 лет уровень антител достоверно ниже, чем у больных более 5 лет. Эффективное лечение рассеянного склероза сопровождается значительным снижением уровня антител (в 6—8 раз). В табл. 1.64 представлены результаты определения анти-ОБМ в сыворотке крови у больных с различными неврологическими заболеваниями.

Таблица 1.64

Уровень анти-ОБМ IgG в сыворотке крови у больных с различными неврологическими заболеваниями [Воробьева Н. Л., 1998]

Неврологическая форма	Концентрация анти-ОБМ, мкг/мл	Выявление от общего количества больных, %
Демиелинизирующие заболевания:		
• рассеянный склероз;	$1737 \pm 223$	100,0
• ретробульбарный неврит;	$955 \pm 127$	100,0
• рассеянный энцефаломиелополирадикулоневрит;	$623 \pm 60,1$	100,0
• подострый склерозирующий панэнцефалит;	$531 \pm 58,3$	100,0
• лейкоэнцефалит	$454 \pm 52,7$	100,0

Окончание табл. 1.64

Нозологическая форма	Концентрация анти-ОБМ, мкг/мл	Выявление от общего количества больных, %
Бактериальные менингиты и энцефалиты:		
• менингококковый;	69,0 ± 8,4	28,7
• пневмококковый;	94,4 ± 10,1	46,9
• дифтерийный	86,5 ± 7,4	25,1
Детский церебральный паралич	168 ± 15,3	100,0
Посттравматическая энцефалопатия	97,0 ± 7,3	38,2
Диабетическая полирадикулонейропатия	154 ± 11,6	50,2
Ушиб и сдавление головного мозга	102 ± 12,4	64,7

У больных с нейроинфекцией также имеется тесная связь между содержанием анти-ОБМ и формой заболевания. Самый высокий уровень отмечается у больных при менингоэнцефалитах в первые 3 дня заболевания. Обнаружение стабильно сохраняющегося повышенного или нарастающего уровня анти-ОБМ после регресса острой неврологической симптоматики у больных с вирусными менингоэнцефалитами, энцефалитами, менингитами может служить иммунологическим критерием риска развития демиелинизирующих заболеваний.

### 1.9.8.3. Антитела к ганглиозидам в сыворотке крови

Антитела к ганглиозидам в сыворотке крови в норме не определяются.

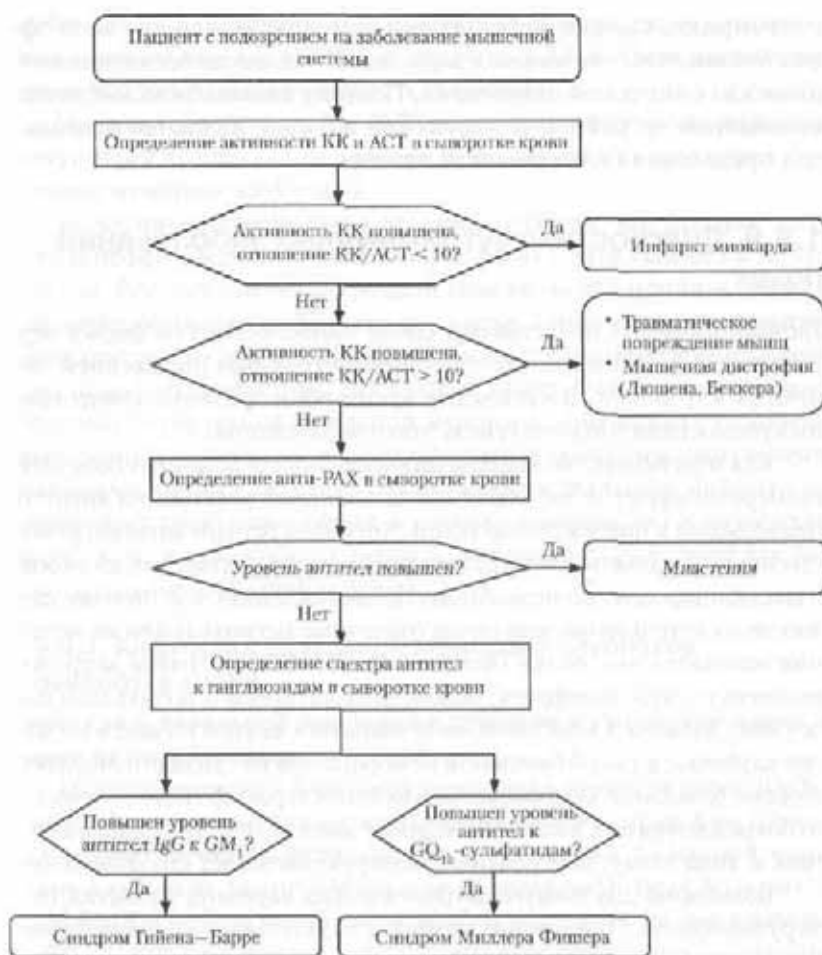
Гликолипиды широко представлены в тканях организма человека, особенно в нервной ткани. Главной формой гликолипидов являются гликофинголипиды. Они содержат церамид, а также один или несколько остатков сахаров. Простейшими соединениями этой группы являются галактозилцерамид (главный гликофинголипид мозга и других нервных тканей) и глюкозилцерамид. Более сложными гликофинголипидами являются ганглиозиды, образующиеся из глюкозилцерида. Ганглиозид — это гликофинголипид, дополни-



тельно содержащий одну или несколько молекул сиаловой кислоты. Ганглиозиды в больших количествах находятся в нервной ткани, где выполняют рецепторные функции. В нейронах периферической нервной системы они локализованы преимущественно на наружной поверхности плазматической мембраны. Простейшим ганглиозидом, встречающимся в нейронах, является  $GM_3$ ; он содержит керамид, 1 молекулу глюкозы, 1 молекулу галактозы и 1 молекулу сиаловой кислоты. В данном сокращении G означает ганглиозид (ganglioside), M — моносиаловое соединение (содержащее 1 молекулу сиаловой кислоты), а индекс 3 — условный номер, присвоенный на основе положения при хроматографическом разделении. Другие ганглиозиды имеют более сложное строение и соответствующие обозначения [Марри Р. и др., 1993].

У больных с нейропатиями обнаруживаются антитела к различным ганглиозидам. Для их выявления используют метод НИФ. Эти антитела могут быть направлены против  $GM_1$ ,  $GM_{1b}$ ,  $GQ_{1b}$ -сульфатидов и/или против галактоцереброзида. Более  $2/3$  пациентов с синдромом Гийена—Барре с  $GM_1$ -антителами имеют в анамнезе инфекцию, вызванную вирусом или бактериями. У 15–60% больных синдром Гийена—Барре ассоциирован с *Campylobacter jejuni*. Этот патоген удается выделить бактериологически из кала у 44–88% пациентов [Rich R. R. et al., 2001]. Высокий титр антител класса IgG к  $GM_1$  характерен для синдрома Гийена—Барре и коррелирует с активностью заболевания.

$GQ_{1b}$  — минорный компонент ганглиозидов в периферической и центральной нервной системе. Антитела к  $GQ_{1b}$  часто обнаруживают у пациентов с синдромом Миллера Фишера, который является вариантом синдрома Гийена—Барре. Клиническими проявлениями синдрома являются офтальмоплегия, атаксия и арефлексия, которые возникают через короткое время (2–3 нед.) после перенесенной инфекции. Антитела к  $GQ_{1b}$  не выявляют у больных с синдромом Гийена—Барре, поэтому позволяют дифференцировать эти два типа нейропатий. Кроме того, антитела к  $GQ_{1b}$  преобладают при сенсорных нейропатиях, связанных с нормальными электрическими свойствами пораженных корешков и нервов и нормальной картиной при биопсии нервов. Они могут давать перекрестную реакцию с гликопротеинами основного белка миелина. Алгоритм диагностики миастении и нейропатии представлен на схеме 1.10.



**Схема 1.10.** Алгоритм диагностики миастении и neuropатии

Антитела к галактоцереброзиду являются близко родственными антисульфатидным антителам и выявляются у больных лепрозным невритом, африканским трипаносомозом и кожной формой лейшманиоза.

Важнейшим моментом успешного лечения neuropатий является его своевременное проведение. Для лечения применяют обменный

плазмаферез. Однако доказано, что эта процедура может быть эффективной, если она начата в период до 2 нед. после появления клинических симптомов нейропатии. Поэтому диагностические тесты, основанные на раннем обнаружении антител, являются ценными для проведения своевременной терапии.

### 1.9.9. Диагностика аутоиммунных заболеваний почек

Гломерулонефрит представляет собой наиболее частую форму первичных заболеваний почек с преимущественным поражением почечных клубочков. В настоящее время общепризнана концепция *иммуновоспалительного генеза* этого заболевания.

Как и большинство иммунологически опосредованных болезней, гломерулонефрит — результат воспалительной реакции на антиген, приводящий к повреждению ткани. Хотя конкретный антиген, ответственный за развитие гломерулонефрита, часто неизвестен, их можно классифицировать по первичному происхождению, т. е. по тому, служит ли их источником сама почка (почечные антигены) или же источник находится вне почки (непочечные антигены). Чтобы запустить развитие гломерулонефрита, непочечные антигены (с антителами или без них) должны в конечном счете оказаться внутри почки: в мезангии клубочка, в самой базальной мембране или на субэндотелиальной стороне базальной мембраны. Дальнейший характер гистологического повреждения при гломерулонефрите зависит от локализации антигена и типа иммунной реакции, которую вызывает его отложение.

Возможны два иммунопатологических варианта развития гломерулонефрита. Один из них возникает в результате взаимодействия аутоантител с аутоантигенами, являющимися белковыми компонентами самой почечной ткани, главным образом базальной мембраны стенки клубочковых капилляров. Эти комплексы формируются и располагаются непосредственно на базальной мембране клубочков, вызывая ее повреждение (антителный, обусловленный аутоантителами к базальной мембране клубочков гломерулонефрит). При втором варианте образование других иммунных комплексов происходит в крови вследствие связывания антител с внепочечными и внесклубочковыми антигенами. Вначале эти иммунные комплексы циркулируют в крови, затем осаждаются на базальных мембранах

клубочковых капилляров и вызывают их повреждение (иммунокомплексный гломерулонефрит, см. разд. 1.3.1.5 «Циркулирующие иммунные комплексы в сыворотке крови»).

Установлено, что до 75–80 % гломерулонефритов вызывается иммунными комплексами и менее 10 % связано с антителами к базальной мембране клубочков.

Те же иммунологические реакции, которые индуцируют гломерулонефрит, могут вызывать повреждение канальцевых клеток, сосудов. Результатом такого воздействия являются мононуклеарная или нейтрофильная инфильтрация интерстиция почек и развитие воспалительного процесса, что объединяется понятием «тубулоинтерстициальный нефрит». Последний может быть вызван аутоантителами к тубулярной базальной мембране, иммунными комплексами антиген–антитело, клеточно-опосредованными иммунными реакциями. В ряде случаев тубулоинтерстициальный нефрит сопровождает гломерулонефрит, в других — изменения в клубочках отсутствуют и тубулоинтерстициальный нефрит существует как самостоятельное заболевание почек.

#### 1.9.9.1. Антитела к базальной мембране клубочков в сыворотке крови

Антитела к базальной мембране клубочков в сыворотке крови в норме не определяются.

Наличие антител к базальной мембране клубочков (анти-БМК) наиболее характерно для больных быстро прогрессирующим гломерулонефритом, обусловленным аутоантителами к базальной мембране клубочков (анти-БМК–гломерулонефрит). Всех больных с анти-БМК–гломерулонефритом можно разделить на две группы: больные, которые имеют только почечную патологию — болезнь Гудпасчера (50 %), и больные, у которых почечная патология сочетается с легочной — синдром Гудпасчера — системное заболевание (50 %). Очень редко больные 1-й группы имеют ограниченную патологию легких.

Антигеном для образования анти-БМК служит С-концевой участок  $\alpha_2$ -цепи коллагена IV типа, который является компонентом гломерулярной базальной мембраны (антиген Гудпасчера). В настоящее время существует множество методов определения анти-БМК — НИФ, ИФА (наиболее доступен), РИА.

Клинически поражение почек, вызванное анти-БМК-антителами, обычно проявляется быстро прогрессирующим гломерулонефритом, но возможны более мягкие варианты, дающие спонтанные ремиссии.

Повышенный уровень анти-БМК обнаруживают у 90–95 % пациентов с болезнью Гудпасчера. Большинство больных с активным анти-БМК-гломерулонефритом имеют уровень анти-БМК выше 100 Ед. При эффективном лечении уровень анти-БМК снижается, и они могут исчезнуть через 3–6 мес. У ряда пациентов с быстро прогрессирующим гломерулонефритом одновременно в крови определяются анти-БМК и АНА (до 40 % больных). Обычно такое сочетание говорит в пользу хорошего прогноза у больных с быстро прогрессирующим гломерулонефритом [Henry J. W., 1996]. Приблизительно у 70 % больных анти-БМК-гломерулонефритом имеются антитела к базальной мембране почечных канальцев, которые вызывают параллельное развитие тубулоинтерстициального нефрита.

Синдром Гудпасчера — редкое заболевание, характеризующееся одновременным быстро прогрессирующим поражением почек и легких (легочно-почечный синдром) и связанное с образованием анти-БМК почек, обязательно дающих перекрестную реакцию с антигеном базальной мембраны легочных альвеол (содержат эпитоп коллагена IV типа). Чаще болеют мужчины в возрасте 10–50 лет. Женщины составляют менее 30 % больных. Уровень анти-БМК повышен более чем у 90 % больных синдромом Гудпасчера. Титр анти-БМК коррелирует с активностью процесса, поэтому используется для мониторинга эффективности лечения. У 98 % страдающих синдромом Гудпасчера наблюдается железодефицитная анемия, у 50 % — выявляется лейкоцитоз, у 88 % — протеинурия, более чем у 70 % — эритроциты, лейкоциты и зернистые цилиндры в моче. У 10 % больных на ранней стадии заболевания изменения в моче отсутствуют. У большинства больных в крови постепенно нарастает уровень креатинина.

Повышенный уровень анти-БМК в сыворотке крови может быть обнаружен у пациентов с другими формами гломерулонефрита.

Определение анти-БМК, АНЦА, а также АНА и ЦИК показано всем больным с первичным быстро прогрессирующим гломерулонефритом.

### 1.9.9.2. Антитела к тубулярной базальной мембране в сыворотке крови

Антитела к тубулярной базальной мембране в сыворотке крови в норме не определяются.

Тубулоинтерстициальный нефрит представляет собой воспалительное заболевание почек неинфекционной природы с локализацией патологического процесса в интерстициальной (межклеточной) ткани и поражением канальцевого аппарата нефронов.

Антитела к тубулярной базальной мембране выявляют приблизительно у 50 % больных тубулоинтерстициальным нефритом. Повышенный уровень этих антител в крови можно обнаружить у пациентов, принимающих метициллин, дифенилгидантоин.

### 1.9.10. Диагностика аутоиммунных заболеваний желудочно-кишечного тракта

Аутоиммунный гастрит является вариантом хронического гастрита типа А. Он встречается значительно реже, чем хеликобактерный гастрит, и обычно сочетается с  $B_{12}$ - и фолиевоедефицитной анемией, реже — с болезнью Аддисона, гипопаратиреозом и аутоиммунным тиреоидитом Хашимото. Непосредственной причиной довольно быстрого развития атрофии является выработка аутоантител к обкладочным клеткам и внутреннему фактору. Аутоантитела связываются с обкладочными клетками слизистой оболочки желудка, повреждают функциональные железы и приводят к прогрессирующей атрофии. Клинически аутоиммунный гастрит характеризуется ахилией, морфологически — резко выраженной атрофией фундальных желез с кишечной метаплазией. Следствием этого является дефицит внутреннего фактора, вырабатываемого париетальными клетками. Это ведет к нарушению всасывания витамина  $B_{12}$  и к развитию пернициозной анемии. Возникновение ахлоргидрии обусловлено наличием антител против  $H^+, K^+$ -АТФазы, обеспечивающей функцию протонного насоса при секреции соляной кислоты.

Глютеиновая энтеропатия (нетропическая спру, целиакия взрослых, глютеиновая болезнь, идиопатическая стеаторея) — заболевание, в основе которого лежит дефицит специфических ферментов группы пептидаз в кишечной стенке, вследствие чего нарушается расщепление пептина злаков — глютенa. В настоящее время при-

знаются два аспекта патогенеза глютеиновой энтеропатии — генетический и иммунный. Генетически наследуемый дефицит пептидаз вызывает неполный гидролиз глютеина. Фактором повреждения слизистой оболочки тонкой кишки считают патологическую иммунную реакцию кишки на глютеин, точнее на одну из его составных частей — глиадин. Пшеничная мука содержит от 7 до 15 % белка, 90 % которого составляет глютеин. В состав глютеина входят четыре компонента: альбумин, глобулин, проламин и глиадин. Последний можно разделить на 40 различных фракций, которые по электрофоретической подвижности объединены в четыре главных семейства —  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - и  $\omega$ -глиадин. Наиболее токсичен  $\alpha$ -глиадин, имеющий высокое сродство к пептидазе слизистой оболочки кишки, называемой тканевой трансглутаминазой, и ретикулину собственной пластинки слизистой оболочки. Он определяет участки молекул антигена, соединяющиеся с антителом в этой пептидазе, которая запускает продукцию ретикулин/эндомизальных антител у восприимчивых пациентов. Глютеиновая энтеропатия может возникнуть в любом возрасте. У взрослых она обычно проявляется хронической или рецидивирующей железодефицитной анемией, у детей — задержкой роста и развития. Для диагностики глютеиновой энтеропатии и оценки эффективности лечения заболевания исследуют уровень антител к  $\alpha$ -глиадину, тканевой трансглутаминазе, поверхностным компонентам гладкомышечных волокон (антиэндомизальные антитела) и ретикулину.

Аутоиммунные механизмы играют важную роль в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника, которые имеют две основные формы: язвенный колит и болезнь Крона. Этиология заболеваний до сих пор достоверно не установлена. Для проведения успешной терапии и определения прогноза важное практическое значение имеет проведение дифференциальной диагностики между болезнью Крона и язвенным колитом.

Хорошо известно, что п-АНЦА в крови выявляют значительно чаще у больных язвенным колитом (в 50–90 % случаев), чем у пациентов с болезнью Крона (в 5–20 % случаев). У 25 % больных язвенным колитом или болезнью Крона выявляют антитела к эритроцитам, у 20 % пациентов с язвенным колитом — антикардиолипновые антитела, а при болезни Крона — ревматоидный фактор. Совсем недавно для дифференциальной диагностики болезни Крона

и язвенного колита разработаны тест-системы на основе ИФА для определения антител к *Saccharomyces cerevisiae*, которые обладают высокой специфичностью в отношении болезни Крона.

В диагностике заболеваний тонкой и толстой кишки немаловажное значение имеет отличие острых воспалительных заболеваний, к которым относится болезнь Крона и язвенный колит, от острых невоспалительных заболеваний, объединенных понятием *синдром раздраженного кишечника*. Основным лабораторным критерием в дифференциальной диагностике этих заболеваний служит уровень лактоферрина в кале.

#### 1.9.10.1. Антитела к париетальным клеткам в сыворотке крови

**Антитела к париетальным клеткам в сыворотке крови в норме не определяются.**

Клетки, в которых происходит образование и секреция соляной кислоты, называются париетальными (обкладочными). Они преимущественно локализируются в железах слизистой оболочки дна желудка. Аутоантитела к париетальным клеткам (анти-ПК) представляют собой антитела к микросомам и клеточной поверхности париетальных клеток. Связываясь с микроворсинками париетальных клеток, анти-ПК повреждают их.

Анти-ПК присутствуют примерно у 90 % пациентов с пернициозной анемией, у 50 % пациентов с аутоиммунным гастритом без пернициозной анемии и у 33 % больных с тиреоидитом Хашимото [Тиц Н., 1997]. Титр антител коррелирует со степенью выраженности атрофии слизистой желудка. С меньшей частотой анти-ПК выявляются у пациентов с болезнью Аддисона, миастенией, ИЗСД, язвенной болезнью желудка, железодефицитной анемией, синдромом Шегрена, а также у 2 % здоровых людей.

Определение анти-ПК является более чувствительным, но менее специфичным тестом в отношении пернициозной анемии, чем исследование антител, блокирующих внутренний фактор.

#### 1.9.10.2. Антитела к внутреннему фактору в сыворотке крови

**В качестве cutoff используют содержание антител к внутреннему фактору в сыворотке крови выше 6 Е/л.**



Внутренний фактор представляет собой белок, вырабатываемый париетальными клетками желудка. Его основная роль состоит в обеспечении всасывания цианкобаламина (витамина  $B_{12}$ ). Дефицит витамина  $B_{12}$  проявляется, благодаря имеющимся в печени запасам, обычно через 1–3 года после нарушения его поступления. Возникновение дефицита приводит к развитию макроцитарной анемии и дегенерации нервных волокон. Витамин  $B_{12}$  входит в состав пищи только животного происхождения и полностью отсутствует в растительной пище. В желудке, высвободившись из пищи под действием соляной кислоты, витамин  $B_{12}$  соединяется с R-белком слюны. После расщепления в двенадцатиперстной кишке R-белка панкреатическим протеазами витамин  $B_{12}$  связывается с внутренним фактором. Щелочная среда в двенадцатиперстной кишке усиливает связь внутреннего фактора с витамином  $B_{12}$ , в результате чего последний становится устойчивым к действию протеолитических ферментов. В дальнейшем молекулы внутреннего фактора и витамина  $B_{12}$  абсорбируются в подвздошной кишке.

Антитела к внутреннему фактору (анти-ВФ) блокируют соединение витамина  $B_{12}$  с внутренним фактором и тем самым препятствуют его всасыванию. От 50 до 75 % больных с пернициозной анемией имеют повышенный уровень анти-ВФ в сыворотке крови [Аруин Л. И. и др., 1998]. Положительный результат на анти-ВФ, особенно если он сочетается с низким уровнем витамина  $B_{12}$ , с высокой вероятностью подтверждает диагноз пернициозной анемии. Однако отсутствие антител не может служить основанием для исключения заболевания. Анти-ВФ могут выявляться у 3–6 % пациентов с гипертиреозом и ИЗСД. Ложноположительные результаты теста на анти-ВФ могут быть обусловлены высоким содержанием в крови пациента витамина  $B_{12}$ .

### 1.9.10.3. Антитела к глиадину в сыворотке крови

В качестве cutoff используют содержание антител к глиадину в сыворотке крови для класса IgA выше 15 МЕ/мл, для IgG — выше 35 МЕ/мл.

У больных с нелеченной глютеновой энтеропатией значительно повышается уровень антител классов IgA и IgG к  $\alpha$ -глиадину в сыворотке крови. В период обострения заболевания уровень антител IgA и IgG повышается в 8–10 раз и более (IgA — у 70–90 %

больных, IgG — у 50–70 %). Чувствительность определения антител IgA для диагностики энтеропатии составляет 87–100 %, специфичность — 62–94,5 % [Парфенов А. И., 2002]. Определение IgG-антител более чувствительный, но менее специфичный, чем IgA, тест для диагностики энтеропатии. Выявление антител к глиадину в крови является дополнительным показанием для проведения биопсии слизистой оболочки тонкой кишки с последующим морфологическим исследованием биоптатов. Эффективное лечение сопровождается снижением уровня IgA-антител до нормальных показателей у большинства больных в течение 3–4 нед., уменьшение уровня IgG-антител в эти сроки менее выражено и остается повышенным у 50 % пациентов [Парфенов А. И. и др., 1997]. Поэтому исследование уровня антител классов IgA и IgG к  $\alpha$ -глиадину в сыворотке крови имеет значение для диагностики, оценки результатов лечения и объективного контроля за соблюдением аглутеиновой диеты. Этот показатель расценивается большинством исследователей как высокоинформативный скрининговый тест, определяющий показания к проведению энтеросорбции как у детей, так и у взрослых [Парфенов А. И., 2002].

Повышенный уровень антител к глиадину в сыворотке крови может быть выявлен у 25 % пациентов с герпетиформным дерматитом и аутоиммунными заболеваниями.

Примерно аналогичную информацию в отношении диагностики глютеиновой энтеропатии дают результаты определения антиэндомизальных антител (антитела к соединительной ткани, расположенной между гладкомышечными волокнами), диагностическая чувствительность которых составляет для IgA — 80–100 %, специфичность — 100 %, и антител к ретикулину (ретикулин — белок ретикулярных волокон, по составу близкий к коллагену) в сыворотке крови. Вместе с тем следует отметить, что антиэндомизальные антитела выявляют у 70–80 % больных глютеиновой болезнью и герпетиформным дерматитом, а антитела к ретикулину — у 60 % детей с глютеиновой болезнью и у 20–30 % пациентов с герпетиформным дерматитом [Тиц Н., 1997]. Небольшой титр антиэндомизальных антител может длительное время определяться у 10–20 % больных целиакией, соблюдающих безглютеиновую диету, несмотря на наличие у них нормальной гистологической картины.

Антитела к ретикулину более специфичны при целиакии у детей, чем антитела к глиадину, но обладают низкой чувствительностью (ниже 4–50 %) [МакНелли П. Р., 1999].

#### 1.9.10.4. Антитела к тканевой трансглутаминазе в сыворотке крови

В качестве cutoff используют содержание антител к тканевой трансглутаминазе в сыворотке крови для класса IgA выше 10 МЕ/мл, для IgG — выше 10 МЕ/мл.

Тканевая трансглутаминаза принадлежит к семейству кальций-зависимых ацилтрансфераз, катализирующих образование перекрестных связей между белками. В настоящее время установлено, что тканевая трансглутаминаза является основным, если не единственным эндомизальным антигеном у больных целиакией. Поэтому определение антител к тканевой трансглутаминазе в сыворотке крови является высокоспецифичным для глютеновой болезни. Для выявления антител используют методы НИФ и ИФА. Антитела к тканевой трансглутаминазе удается обнаружить более чем у 95 % больных с целиакией, и уровень антител в сыворотке крови коррелирует с наличием или отсутствием глютена в пище. Антитела класса IgA обладают 95–100 % чувствительностью и 90–97 % специфичностью в отношении целиакии.

Алгоритм диагностики целиакии представлен на схеме 1.11.

#### 1.9.10.5. Антитела к *Saccharomyces cerevisiae* в сыворотке крови

В качестве cutoff используют содержание антител к *Saccharomyces cerevisiae* в сыворотке крови: для класса IgA — выше 10 МЕ/мл, для IgG — выше 10 МЕ/мл.

*Saccharomyces cerevisiae* — одноклеточные грибы, широко известные как пекарские дрожжи. Антитела к *Saccharomyces cerevisiae* классов IgG и IgA направлены против олигоманнанового эпитопа маннана (фосфопептидоманнана) клеточной мембраны дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Фосфопептидоманнан — растворимый в воде комплекс остатков маннозы, связанных с белком. Последние исследования показали, что антитела классов IgG и IgA к *Saccharomyces cerevisiae* тесно связаны с болезнью Крона и обладают специфичностью 95–100 %. Антитела класса IgG к *Saccharomyces cerevi-*

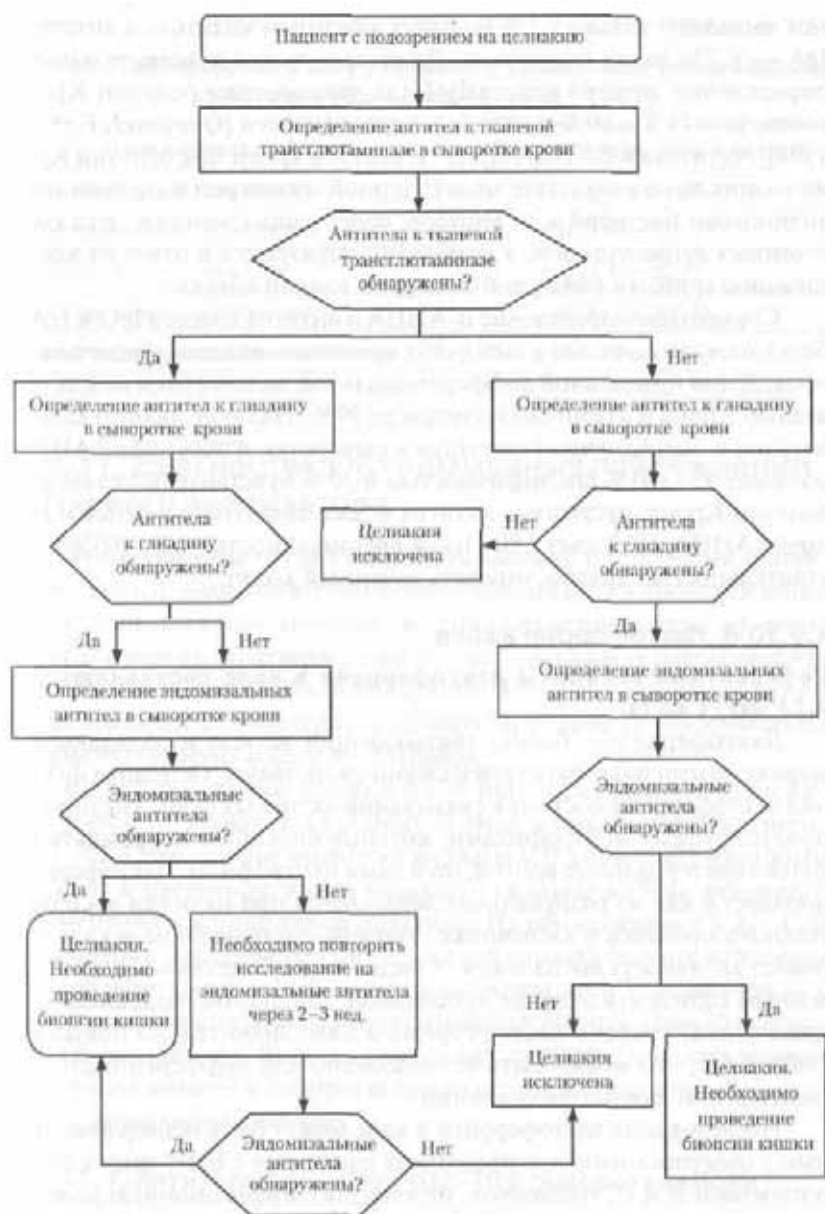


Схема 1.11. Алгоритм диагностики целиакии

*siae* выявляют только у 5 % больных язвенным колитом, а антитела IgA — у 7 % таких пациентов. Диагностическая чувствительность определения антител класса IgG для диагностики болезни Крона составляет 75 % и 60 % — для IgA-класса антител [Quinton J. F. et al., 1998]. Антитела к *Saccharomyces cerevisiae* в крови при болезни Крона возникают в результате молекулярной мимикрии и прайминга с антигенами бактерий или вирусов, содержащих маннозу, или собственных аутоантигенов, а возможно, образуются в ответ на колонизацию грибами слизистой оболочки тонкой кишки.

Совместное определение п-АНЦА и антител классов IgG и IgA к *Saccharomyces cerevisiae* в сыворотке крови повышает специфичность проведения правильной дифференциальной диагностики между болезнью Крона и язвенным колитом до 99 %. Наличие любого класса антител к *Saccharomyces cerevisiae* в сыворотке и отсутствие АНЦА обладает 95–100 % специфичностью и 50 % чувствительностью для болезни Крона; отсутствие антител к *Saccharomyces cerevisiae* и наличие АНЦА позволяет с 90–100 % специфичностью и 50–60 % чувствительностью диагностировать язвенный колит.

#### 1.9.10.6. Лактоферрин в кале

**Референтные величины лактоферрина в кале составляют 0–7,24 мкг/г кала.**

Лактоферрин — белок, связывающий железо и обладающий выраженными бактериостатическими свойствами. Основная функция лактоферрина состоит в связывании активных форм кислорода, продуцируемых нейтрофилами, которые способны повреждать не только бактериальные агенты, но и сами нейтрофилы. Лактоферрин попадает в кал из разрушенных лейкоцитов при наличии воспалительного процесса в кишечнике. Уровень лактоферрина в кале отражает активность воспаления. У пациентов с болезнью Крона и язвенным колитом, в отличие от больных с синдромом раздраженного кишечника, уровень лактоферрина в кале значительно повышен (табл. 1.65), что может быть использовано для дифференциальной диагностики данных заболеваний.

Исследование лактоферрина в кале может быть неинформативным у иммунокомпрометированных пациентов с ВИЧ-инфекцией, гепатитами В и С, пациентов, перенесших инфекционную диарею в течение последних 6 мес., а также при наличии колостомы или илеостомы.

Таблица 1.65

Уровень лактоферрина в кале у больных с различными заболеваниями кишечника [Kayazawa M. et al., 2002]

Позологическая форма	Концентрация, мкг/г кала
Язвенный колит, ремиссия	65,65 ± 24,20
Язвенный колит, обострение	1814,89 ± 788,25
Болезнь Крона, ремиссия	239,41 ± 82,73
Болезнь Крона, обострение	672,11 ± 241,79
Синдром раздраженного кишечника	1,27 ± 0,41

### 1.9.11. Диагностика аутоиммунных повреждений слухового анализатора

Снижение остроты слуха может быть вызвано различными причинами. Роль и значение аутоиммунных механизмов в происхождении тугоухости, хотя и остается до сих пор предметом дискуссий, получают все больше подтверждений. К заболеваниям, в патогенезе которых аутоиммунные механизмы, возможно, играют немаловажную роль, относятся отосклероз, кохлеарный неврит (нейросенсорная форма тугоухости) и болезнь Меньера.

В возникновении приведенной патологии особое значение отводится антителам к коллагену II типа и кохлеарному антигену (hsp-70). Определение антител к коллагену II типа (фибрилярным белкам) в настоящее время не нашло сколько-нибудь значимого применения в клинической практике. Их обнаруживают у 22–45 % пациентов с идиопатической (неустановленной) формой нейросенсорной тугоухости, у 14 % — с отосклерозом и у 6 % пациентов — с болезнью Меньера. Исследование антител к антигену hsp-70 используют более широко. Вместе с тем следует отметить, что определение этих типов антител в сыворотке крови играет вспомогательную роль при установлении диагноза.

#### 1.9.11.1. Антитела к антигену hsp-70 в сыворотке крови

Антитела к антигену hsp-70 в сыворотке крови в норме не определяются.

Антиген hsp-70 (кохлеарный антиген, антиген внутреннего уха) представляет собой белок с молекулярной массой 68 000 Да, поэтому антитела к нему часто обозначаются в литературе как anti-68 kDa. Для определения антигена hsp-70 используется метод Western-blot (OToBlot™) — встречная преципитация в геле антител сыворотки крови больного с антигеном hsp-70, нанесенным на нитроцеллюлозу.

Антитела к антигену hsp-70 обнаруживают у 40 % больных с быстропрогрессирующей нейросенсорной формой тугоухости. Выявление антител является показанием для проведения иммуносупрессивной терапии (кортикостероиды, метотрексат), которая дает хороший эффект у 75 % пациентов (при отсутствии антител — только у 18 % больных) [Moscicki R. A. et al., 1990]. По данным разных авторов, антитела к антигену hsp-70 выявляют у 30–60 % пациентов с болезнью Меньера (у 60 % больных с двусторонней формой заболевания и у 30–35 % — при односторонней форме), а также у 37 % больных, страдающих эндолимфатической водянкой [Gottschlich S. et al., 1995]. R. A. Moscicki и соавт. [1994] указывают на то, что антитела в сыворотке крови обнаруживаются только при активной форме нейросенсорной тугоухости и болезни Меньера и отсутствуют вне обострения.

OToBlot™ может давать положительные результаты при других различных аутоиммунных состояниях и ряде инфекционных заболеваний. В связи с этим полученные результаты должны оцениваться критически и интерпретироваться с учетом клинической картины заболевания и данных других исследований.

### 1.9.12. Диагностика аутоиммунной гемолитической анемии

Аутоиммунная гемолитическая анемия обусловлена появлением антиэритроцитарных антител, которые способны разрушать эритроциты, приводя к развитию анемии. В зависимости от температурных характеристик активности антител выделяют приведенные ниже группы аутоиммунных гемолитических анемий [Lee R. G. et al., 1998]. При холодовой форме анемии активность связывания антител с эритроцитами возрастает при понижении температуры, при тепловой форме антитела (агглютинины) активнее связываются при температуре 37 °С.

### Классификация аутоиммунных гемолитических анемий

1. Аутоиммунные гемолитические анемии, вызываемые холодowymi антителами:

- болезни холодowych агглютининов:
  - идиопатические;
  - вторичные:
    - лимфопролиферативные заболевания;
    - инфекционные заболевания: *Mycoplasma pneumoniae* (холодовые аутоагглютинины обнаруживают у 30–90 % пациентов в титре от 1:14 до 1:224); инфекционный мононуклеоз; другие вирусы;
- пароксизмальная холодовая гемоглобинурия:
  - идиопатическая;
  - вторичная:
    - сифилис (третичный);
    - паротит, корь, другие вирусы.

2. Аутоиммунные гемолитические анемии, вызываемые тепловыми антителами:

- идиопатическая;
- вторичные:
  - лимфопролиферативные заболевания;
  - другие малигнизирующие заболевания;
  - аутоиммунные заболевания;
  - вирусные инфекции;
  - иммунодефицитные состояния (СПИД);
- лекарственно-индуцированная:
  - лекарственно-адсорбционный тип (пенициллин);
  - неоантигенный или иммунокомплексный тип (хинин, изо-ниазид, фенацетин);
  - аутоиммунный тип (метилдофа).

3. Аутоиммунные гемолитические анемии, вызываемые холодowymi и тепловыми антителами (смешанные).

Аутоиммунные гемолитические анемии, вызываемые холодowymi антителами, периодически сопровождаются внутри- (с активацией комплемента) и внесосудистым гемолизом и окклюзией сосудов микроциркуляции. Внесосудистый гемолиз сопровождается преимущественным разрушением эритроцитов в печени. В настоящее время изучены два типа этой болезни.



*Болезнь холодových агглютининов* возникает при наличии идиопатического парапротеина в сыворотке крови или как следствие микоплазменной инфекции, инфекционного мононуклеоза либо лимфопролиферативных заболеваний. На поверхности мембраны эритроцитов обнаруживают антитела класса IgM и C3-компонент комплемента. Антитела класса IgM обладают максимальной активностью при температуре от 0 до 30 °С и направлены против I- или i-антигена эритроцитов.

*Пароксизмальная холодовая (ночная) гемоглобинурия* бывает идиопатической и вторичной, вызванной вирусными инфекциями или третичным сифилисом. Эритроциты, лейкоциты и тромбоциты у больных пароксизмальной холодовой гемоглобинурией имеют аномально увеличенную чувствительность к нормальной активации комплемента. Повышенная чувствительность обусловлена тем, что глицерофосфоинозитолсвязывающие белки клеточных мембран, в норме инактивирующие активированный комплемент, в клетках крови больного отсутствуют. Поэтому эритроциты при пароксизмальной холодовой гемоглобинурии являются более чувствительными к гемолизу после активации комплемента в сыворотке крови, чем нормальные эритроциты. Гемолитическая анемия с холодowymi антителами по степени анемии реже является тяжелой по сравнению с аутоиммунной гемолитической анемией, вызываемой тепловыми антителами. Диагноз может быть подтвержден путем искусственной активации комплемента в сыворотке крови больного по сравнению с активацией комплемента в сыворотке крови, содержащей нормальные эритроциты (например, умеренным закислением — проба Хема на кислый гемолиз).

Аутоиммунная гемолитическая анемия, вызываемая тепловыми антителами, бывает идиопатической, лекарственной либо вторичной (гемобластозы, коллагенозы, вирусные инфекции, СПИД). Тепловые антитела относятся к классу IgG с максимальной активностью при температуре 37 °С. Наиболее часто их действие направлено против резус-антигенов. Гемолиз не требует потребления комплемента, чаще бывает внутрисосудистым с первичным разрушением эритроцитов в селезенке. Гемолитическая анемия, вызванная лекарственными препаратами, имеет в своей основе различные патогенетические механизмы.

*Аутоиммунная лекарственная анемия* обусловлена антителами IgG. В большинстве случаев причиной болезни является метилдофа

(гемолитическая анемия развивается у 1 % пациентов, принимающих препарат). *Лекарственно-адсорбционный тип гемолитической анемии* связан с лечением антибиотиками пенициллинового ряда. Пенициллин и другие близкие по структуре антибиотики при их приеме сорбируются на поверхности эритроцитов. Если в крови присутствуют антитела к пенициллину, то после назначения этого препарата, особенно в высоких дозах (10–30 млн МЕ/сут), они связываются друг с другом на поверхности эритроцитов и разрушают их. *Иммунокомплексный тип гемолитической анемии* может возникнуть при приеме таких лекарственных препаратов, как хинин, изониазид, фенацетин, которые способны индуцировать образование специфических антител класса IgM (иногда — IgG). При взаимодействии препарата с антителами образуются иммунные комплексы, которые оседают на поверхности эритроцитов и разрушают их.

Анамнез, результаты клинического обследования и лабораторных анализов составляют основу для диагностики аутоиммунной гемолитической анемии. Лабораторные исследования должны включать подсчет всех клеток периферической крови, количества ретикулоцитов (повышено при идиопатических формах до 30–40 %), исследование мазка (фрагменты эритроцитов, сфероциты, полихромазия и иногда — нормобласты), определение непрямого билирубина и активности ЛДГ (повышены), гаптоглобина (снижен), а также прямой тест Кумбса и, если есть указания в анамнезе, криоглобулинов в сыворотке крови.

Разделение аутоиммунной гемолитической анемии на две группы — вызываемую тепловыми антителами и обусловленную холодowymi антителами — имеет важное практическое значение. Аутоиммунная гемолитическая анемия, вызываемая тепловыми антителами, приводит к преимущественному разрушению эритроцитов в селезенке и их удалению с помощью этого органа. Поэтому иммуносупрессивная терапия и спленэктомия являются успешными методами лечения данной формы анемии. Когда большинство эритроцитов разрушается преимущественно печенью, что имеет место при ряде форм аутоиммунной гемолитической анемии, обусловленной холодowymi антителами, то спленэктомия, а часто и иммуносупрессивная терапия являются малоэффективными методами лечения. Вместе с тем аутоиммунная гемолитическая анемия

с холодовыми антителами, обусловленная злокачественными заболеваниями, лечится с использованием иммуносупрессивных или химиотерапевтических препаратов.

### 1.9.12.1. Пробы Кумбса

**Антитела к эритроцитам в крови в норме не определяются.**

Прямая проба Кумбса — антиглобулиновый тест (агглютинация в теле, позволяет выявить полные — двухвалентные антитела), с помощью которого определяют антитела класса IgG и C3-компонент комплемента на поверхности эритроцитов. Обычно антитела, выявляемые прямой пробой Кумбса, имеют широкую специфичность, не ассоциированную с хорошо установленным антигеном. Положительная прямая проба Кумбса четко указывает на наличие у больного гемолитической анемии, хотя не все больные с положительным прямым антиглобулиновым тестом страдают аутоиммунной гемолитической анемией. Приблизительно у 10% больных имеются антитела или компонент комплемента на мембране эритроцитов, которые не удается определить прямой пробой Кумбса (тест отрицательный), но тем не менее они страдают аутоиммунной гемолитической анемией. Поэтому больные при сильном подозрении на это заболевание должны получать лечение как при аутоиммунной гемолитической анемии [Полин Р. А., Дитмар М. Ф., 1999]. Для уточнения специфичности антител в таких случаях используют тесты с их элюцией. Прямая проба Кумбса, положительная только к комплементу, обычно имеет отношение к холодовому антителу типа IgM. В этом случае антитела IgM не присутствуют на эритроцитах при базальной температуре тела. Однако вследствие того, что антитела IgM активно фиксируют комплемент и комплемент остается на эритроцитах, при данной форме аутоиммунной гемолитической анемии (болезнь холодовых агглютининов) проба Кумбса будет положительна только к комплементу.

Прямая проба Кумбса положительна при аутоиммунной гемолитической анемии, вызываемой тепловыми антителами, аутоиммунной лекарственной анемии (при приеме метилдофы до 20% больных имеют положительную реакцию), лекарственно-адсорбционном типе гемолитической анемии, иммунокомплексном типе гемолитической анемии (проба положительна только по отношению к C3), при аутоиммунной гемолитической анемии, вызываемой хо-

ловыми антителами — болезни холодовых агглютининов (проба положительна только по отношению к С3).

При пароксизмальной холодовой гемоглобинурии прямая проба Кумбса отрицательная. Однако в крови таких больных нередко отсутствует гаптоглобин, а в костном мозге — железо, выявляется повышенная экскреция железа с мочой.

Непрямая проба Кумбса — непрямым антиглобулиновый тест (обнаруживает неполные антитела) позволяет выявить атипичные антитела в крови, в том числе аллоантитела, к чужим антигенам эритроцитов. Свое название — непрямая — получила вследствие того, что реакция протекает в два этапа. Первоначально сыворотка крови больного, содержащая неполные антитела, взаимодействует с добавленным корпускулярным антиген-диагностикумом без видимых проявлений. На втором этапе внесенная антиглобулиновая сыворотка взаимодействует с неполными антителами, адсорбированными на антигене, с появлением видимого осадка. Переливание гомологичных (аллогенных) эритроцитов или беременность — наиболее частые причины образования этих антиэритроцитарных антител. Сочетание положительной непрямой пробы Кумбса с отрицательной прямой пробой ничего не дает для диагностики аутоиммунной гемолитической анемии. Положительная непрямая проба Кумбса вызывает определенные трудности при подборе крови для переливания и при проведении *перекрестной пробы на совместимость* с консервированной кровью, но не имеет другого диагностического значения.

Алгоритм диагностики причин гемолитической анемии представлен на схемах 1.12, 1.13.

## 1.10. ИССЛЕДОВАНИЕ ОНКОМАРКЕРОВ

К маркерам злокачественного роста относятся вещества разной природы: антигены, гормоны, ферменты, гликопротеины, липиды, белки, метаболиты. Синтез маркеров обусловлен особенностями метаболизма раковой клетки, которые обеспечивают ее автономность, агрессивность роста, способность к метастазированию. Аномальная экспрессия генома — один из основных механизмов продукции маркеров опухолевыми клетками, который обуславливает синтез эмбриональных, плацентарных и эктопических ферментов, антиге-

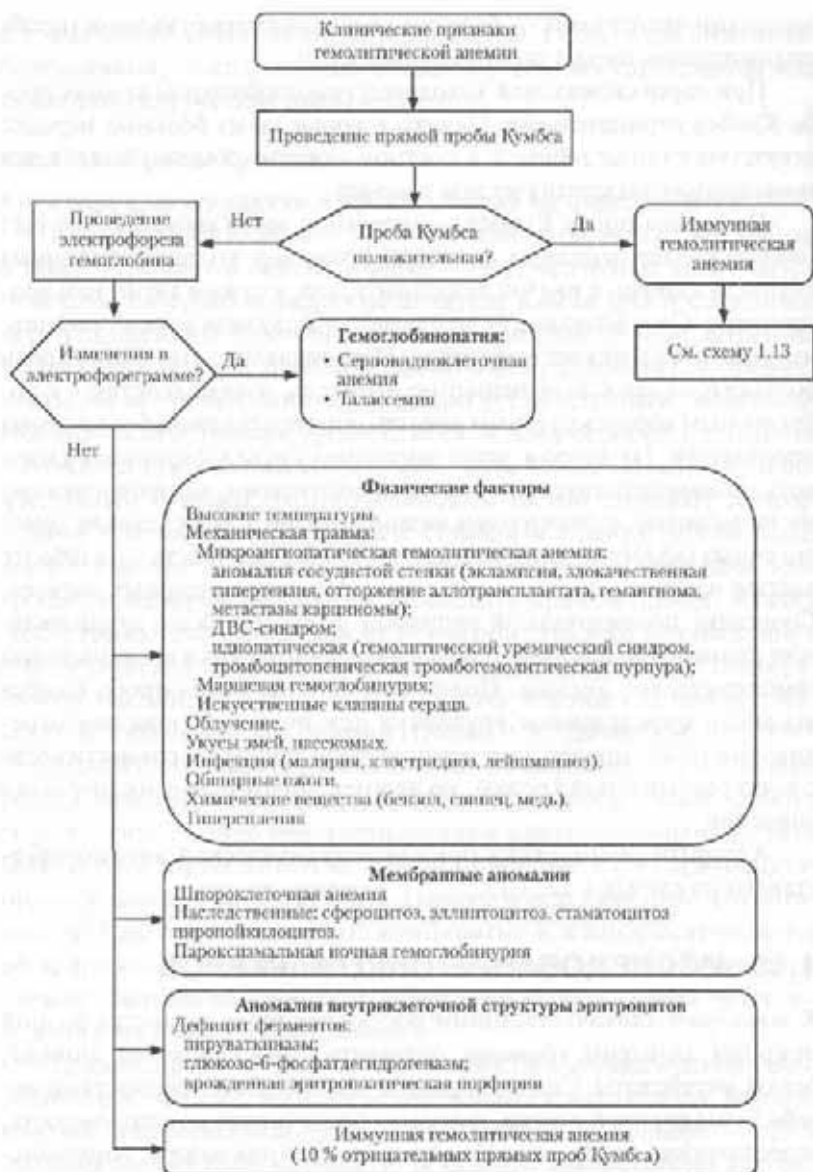
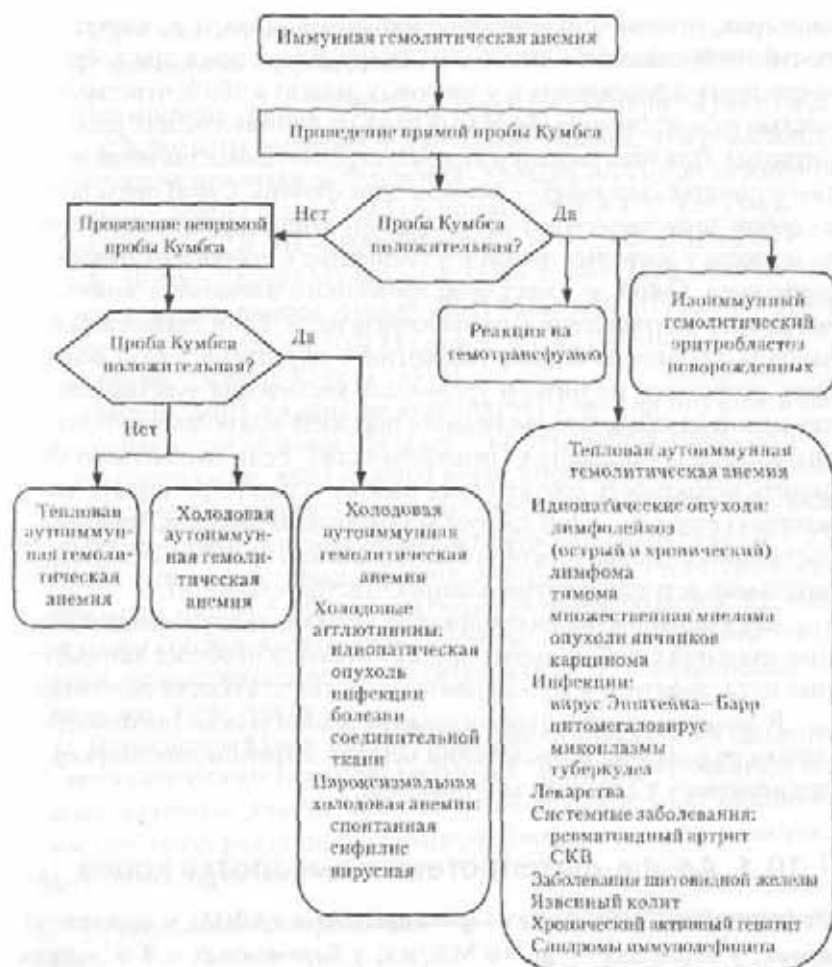


Схема 1.12. Алгоритм диагностики причин гемолитической анемии



**Схема 1.13.** Алгоритм диагностики причин иммунной гемолитической анемии

нов и гормонов. Известен широкий спектр маркеров при различных локализациях рака, однако лишь некоторые из них могут в какой-то мере соответствовать понятию «идеальный маркер».

Диагностическая значимость опухолевого маркера зависит от его чувствительности и специфичности. Пока не существует опухолевых

маркеров, отвечающих определению «идеальных», т. е. маркеров с почти 100 % специфичностью (не обнаруживающихся при доброкачественных заболеваниях и у здоровых людей) и 100 % чувствительностью (обязательно выявляемых даже на ранних стадиях развития опухоли). При исследовании онкомаркеров большое значение имеет такое понятие, как *cutoff* — отсекающий уровень. *Cutoff* представляет собой допустимую верхнюю границу концентрации опухолевого маркера у здоровых людей и у пациентов с доброкачественными опухолями. *Cutoff* не имеет фиксированного значения и может изменяться в соответствии с назначением теста. Если ставится задача выявить как можно больше пациентов с опухолями, *cutoff* должен быть установлен на низком уровне для увеличения чувствительности ценой неизбежного увеличения процента ложноположительных результатов (уменьшения специфичности). Если необходимо увеличить вероятность соответствия положительного результата теста наличию опухоли, *cutoff* следует установить на высоком уровне для увеличения специфичности за счет увеличения процента ложноотрицательных результатов (уменьшения чувствительности).

Для большинства онкомаркеров установлены унифицированные значения *cutoff*, которых придерживаются наиболее авторитетные исследователи и производители соответствующих реагентов.

В данном разделе будет изложена клиническая значимость и оценка результатов исследований основной группы онкомаркеров, применяемых в клинической практике.

### 1.10.1. Альфа-фетопротейн в сыворотке крови

**Референтные величины  $\alpha$ -фетопротейна (АФП) в сыворотке крови:** у взрослых — до 10 МЕ/мл; у беременных с 8-й недели его содержание повышается и составляет во II–III триместрах 28–120 МЕ/мл; у новорожденных в первые сутки жизни — до 100 МЕ/мл. Период полужизни — 3–6 дней.

АФП — онкомаркер, гликопротеин, вырабатываемый желточным мешком эмбриона. АФП как онкомаркер имеет следующее клиническое применение:

- 1) для выявления и мониторинга первичной гепатоцеллюлярной карциномы, которая возникает, как правило, в цирротической печени;

- 2) для выявления тератобластомы яичка;
- 3) для оценки эффективности терапии этих заболеваний.

Повышение уровня АФП при гепатоцеллюлярном раке печени у 50 % больных выявляется на 1–3 мес. раньше, чем появляются клинические признаки заболевания. Уровень АФП при первичной карциноме печени более 15,0 МЕ/мл выявляется в 95 % случаев, 15–100 МЕ/мл — в 12 %, 100–1000 МЕ/мл — в 14 %, 1000–10 000 МЕ/мл — в 29 %, 10 000–100 000 МЕ/мл — в 39 % случаев. При метастатическом поражении печени уровень АФП более 15,0 МЕ/мл обнаруживается в 9 % случаев; 15–100 МЕ/мл — в 7 %; 100–1000 МЕ/мл — в 2 % случаев [Lamertz R. et al., 1991].

Уровень АФП в крови не коррелирует с массой опухоли менее 2 кг, однако при опухолях больше 5 кг отмечается 100 % соответствие. Содержание АФП хорошо коррелирует с ответом на химиотерапевтическое лечение гепатомы, значительное снижение свидетельствует о терапевтической эффективности. Однако в связи с тем, что полный эффект химиотерапии, как правило, отсутствует, нормализации уровня АФП в крови больных не наблюдается. Удаление гепатомы сопровождается резким уменьшением содержания АФП в крови, персистирующее его увеличение говорит о нерадикальности хирургического лечения.

Повышенный уровень АФП определяется также у 9 % пациентов с метастатическим поражением печени при злокачественных опухолях молочной железы, бронхов и колоректальной карциноме, при гепатитах различной этиологии (повышение при этом носит временный характер).

**Определение содержания АФП в сыворотке крови применяют для:**

- диагностики и мониторинга лечения гепатоцеллюлярного рака;
- диагностики герминогенных опухолей;
- диагностики метастазов любой опухоли в печень;
- скрининга в группах высокого риска (цирроз печени, гепатит, дефицит  $\alpha_1$ -антитрипсина);
- пренатальной диагностики (пороки развития нервного канала, синдром Дауна у плода);
- оценки степени зрелости плода.



### 1.10.2. Раково-эмбриональный антиген в сыворотке крови

**Референтные величины раково-эмбрионального антигена (РЭА) в сыворотке крови 0–5 нг/мл, у страдающих алкоголизмом — 7–10 нг/мл, у курящих — 5,0–10,0 нг/мл. Период полужизни — 14 дней.**

РЭА — гликопротеин, формируемый при эмбриональном развитии в ЖКТ. На уровень РЭА влияет курение и, в меньшей степени, прием алкоголя. Небольшое повышение уровня РЭА наблюдается у 20–50 % больных с доброкачественными заболеваниями кишечника, поджелудочной железы, печени и легких. Основное применение РЭА — мониторинг развития заболевания и эффективности терапии у больных с колоректальной карциномой. Чувствительность теста составляет [Lamertz R. et al., 1991] при:

- колоректальном раке — 50 % при концентрации > 7,0 нг/мл;
- раке печени — 33 % при концентрации > 7,0 нг/мл;
- раке молочной железы — 28 % при концентрации > 4,2 нг/мл;
- раке желудка — 27 % при концентрации > 7,0 нг/мл;
- раке легких — 22 % при концентрации > 7,4 нг/мл.

Уровень РЭА в сыворотке крови больных раком толстой кишки коррелирует со стадией заболевания и служит показателем эффективности оперативного вмешательства, химио- и лучевой терапии. РЭА может использоваться в качестве раннего индикатора рецидивов и метастазов. При нелеченных злокачественных опухолях уровень РЭА постоянно увеличивается, причем в начальной стадии его рост имеет выраженный характер.

Повышенный уровень РЭА может сопровождать рак поджелудочной железы. Чувствительность и специфичность РЭА для диагностики рака поджелудочной железы составляют соответственно 63,3 и 81,7 %. Однако содержание РЭА увеличивается у части больных при панкреатите, что снижает ценность использования этого маркера при раке поджелудочной железы.

Повышенный уровень РЭА выявляется у 30–50 % больных раком молочной железы, у 33–36 % больных раком легкого. Уровень РЭА может повыситься при хронических заболеваниях легких, аутоиммунных заболеваниях, но после выздоровления этот уровень нормализуется. Заболевания, при которых повышается уровень РЭА, приведены в табл. 1.66.

Таблица 1.66

**Заболевания и состояния, при которых повышается уровень РЭА**

Рак (локализация)	Чувствительность, %	Нераковые заболевания	Чувствительность, %
Толстая и прямая кишка	70–80	Эмфизема легких	20–50
Поджелудочная железа	60–90	Активный язвенный колит	10–25
Легкие	65–75	Алкогольный цирроз	25–70
Желудок	30–60	Холестит	6–20
Молочная железа	50–65	Полипы прямой кишки	4–20
Яичник	40	Доброкачественные заболевания молочной железы	4–15
Другие карциномы	20–50		

**Определение содержания РЭА в сыворотке крови применяют для:**

- мониторинга течения и лечения рака прямой кишки (повышение концентрации до 20 нг/мл — диагностический признак злокачественных опухолей различной локализации);
- мониторинга опухолей ЖКТ, опухолей легких, опухолей молочной железы;
- ранней диагностики рецидивов и метастазов рака;
- мониторинга в группах риска (цирроз, гепатит, панкреатит).

### 1.10.3. Карбогидратный антиген СА 19-9 в сыворотке крови

Референтные величины СА 19-9 в сыворотке крови до 37 МЕ/мл.  
Период полужизни — 5 дней.

СА 19-9 — гликопротеин, обнаруживаемый в фетальном эпителии поджелудочной железы, желудка, печени, тонкой и толстой кишки, легких. У взрослых данный антиген является маркером железистого эпителия большинства внутренних органов и продуктом их секреции. Следует учитывать, что антигенная детерминанта

антигена СА 19-9 и антигена группы крови Льюис (Le(a-b-)) кодируется одним геном. Этот ген отсутствует у 7–10 % людей в популяции. Соответственно, у такого количества людей генетически отсутствует возможность синтеза СА 19-9, поэтому даже при наличии злокачественной опухоли из железистого эпителия уровень маркера в сыворотке крови не определяется или его концентрация находится на очень низких цифрах. СА 19-9 выводится исключительно с желчью, поэтому даже незначительный холестаз может быть причиной значительного повышения его уровня в крови. Повышение концентрации СА 19-9 (до 100 МЕ/мл и даже до 500 МЕ/мл) может наблюдаться также при доброкачественных и воспалительных заболеваниях ЖКТ (в 50 % случаев панкреатита) и печени (гепатит, цирроз), при муковисцидозе и воспалительных заболеваниях органов малого таза у женщин (в 25 % случаев эндометриоза и миомы матки). У этих групп больных СА 19-9 может быть использован в качестве маркера мониторинга лечения этих заболеваний.

Как онкомаркер СА 19-9 имеет чувствительность 82 % в случае карциномы поджелудочной железы. Не обнаружено корреляции между концентрацией маркера и массой опухоли. Вместе с тем его уровень выше 10 000 МЕ/мл свидетельствует о наличии отдаленных метастазов. Исследование уровня СА 19-9 в динамике дает ценную информацию для оценки эффективности хирургического лечения и определения прогноза. При невысоком уровне СА 19-9 в крови (64–690 МЕ/мл) продолжительность жизни больных составляет в среднем 17 мес., при уровне 75–24 000 МЕ/мл — 4 мес. [Staab H. J., 1986].

СА 19-9 имеет чувствительность от 50 до 75 % при гепатобилиарной карциноме. В настоящее время СА 19-9 является вторым по значимости (после РЭА) маркером для диагностики карциномы желудка. Его повышение наблюдается у 42–62 % больных раком желудка. Чувствительность СА 19-9 составляет:

- у больных раком поджелудочной железы — 82 % при cutoff более 80 МЕ/мл;
- у больных раком печени — 76 % при cutoff более 80 МЕ/мл;
- у больных раком желудка — 29 % при cutoff более 100 МЕ/мл;
- у больных колоректальным раком — 25 % при cutoff более 80 МЕ/мл [Staab H. J., 1986].

У больных серозным раком яичников повышенный (в 2–4 раза) уровень СА 19-9 выявляют в 40–45 % случаев заболевания. Опреде-

ление СА 19-9 необходимо использовать в сочетании с маркером СА 72-4 у больных муцинозным раком яичников, так как более 80 % таких пациенток имеют повышенный уровень СА 19-9. Несмотря на относительную специфичность СА 19-9 для рака яичников, у 50 % больных он может применяться для оценки эффективности лечения.

**Определение содержания СА 19-9 в сыворотке крови применяется для:**

- диагностики и мониторинга лечения рака поджелудочной железы;
- раннего обнаружения метастазирования опухоли поджелудочной железы;
- мониторинга рака толстой кишки, желудка, желчного пузыря и желчных протоков;
- диагностики и мониторинга лечения рака яичников в сочетании с СА 125 и СА 72-4.

#### **1.10.4. Муциноподобный ассоциированный антиген в сыворотке крови**

**Референтные величины муциноподобного ассоциированного антигена (МСА) в сыворотке крови до 11 МЕ/мл.**

МСА — опухоль-ассоциированный антиген, присутствующий в клетках молочной железы. Представляет собой сывороточный муцин-гликопротеид. Концентрация МСА в сыворотке крови увеличивается при раке молочной железы и в 20 % — при доброкачественных заболеваниях молочной железы. МСА применяется для мониторинга течения карциномы молочной железы. При уровне cutoff 11 МЕ/мл МСА имеет специфичность 84 % и чувствительность до 80 % в зависимости от клинической стадии опухоли [Caffier H., 1992]. При сочетании его определения с другими маркерами чувствительность не повышается. Исследование МСА важно для мониторинга эффективности оперативного, химио- и лучевого лечения рака молочной железы.

**Определение содержания МСА в сыворотке крови применяется для:**

- мониторинга больных раком молочной железы;
- диагностики отдаленных метастазов рака молочной железы.

### 1.10.5. Раковый антиген СА 125 в сыворотке крови

**Референтные величины СА 125 у женщин в сыворотке крови до 35 МЕ/мл, при беременности сроком 1–2 нед. — до 100 МЕ/мл; у мужчин — до 10 МЕ/мл. Период полужизни — 4 дня.**

СА 125 — гликопротеин, присутствующий в серозных оболочках и тканях. У женщин детородного возраста основным источником данного маркера является эндометрий, с чем связано циклическое изменение уровня СА 125 в крови в зависимости от фазы менструального цикла. В период менструации его концентрация в крови повышается. При беременности СА 125 выявляется в экстракте плаценты, в сыворотке крови беременной (I триместр), в амниотической жидкости (16–20 нед.). У здоровых женщин на уровень СА 125 в крови оказывает влияние синтез этого маркера в мезотелии брюшной и плевральной полостей, перикарде, эпителии бронхов, маточных труб, яичников, а у мужчин (в дополнение к серозным полостям) — в эпителии семенников.

Концентрация СА 125 в крови повышается при различных неопухолевых заболеваниях при вовлечении в процесс серозных оболочек — перитоните, перикардите, плеврите разной этиологии. Более значительное увеличение уровня СА 125 в крови наблюдается иногда при различных доброкачественных гинекологических опухолях (кисты яичников), а также при воспалительных процессах, вовлекающих придатки, и доброкачественной гиперплазии эндометрия. Однако в большинстве таких случаев концентрация СА 125 в сыворотке крови не превышает 100 МЕ/мл. Незначительный подъем уровня этого маркера выявляется также в I триместре беременности, при различных аутоиммунных заболеваниях (коллагенозы), гепатите, хроническом панкреатите и циррозе печени.

У больных с застойной сердечной недостаточностью концентрация СА 125 в крови коррелирует с уровнем натрийуретических пептидов, поэтому может быть использована в качестве дополнительного критерия оценки тяжести сердечной недостаточности [Nagele H. et al., 1999]. Повышение уровня СА 125 в крови по отношению к исходному у этой категории больных отмечается за несколько дней до внезапной смерти в результате сердечно-сосудистой недостаточности.

Исследование СА 125 в крови применяют главным образом для мониторинга серозного рака яичников и диагностики его рецидивов.

При уровне cutoff 65 МЕ/мл СА 125 имеет чувствительность до 87 % в зависимости от стадии и гистологического типа опухоли. У 83 % больных раком яичника его уровень составляет в среднем 124–164 МЕ/мл [Meier W. et al., 1989]. Установлено, что для серозного рака яичников уровень повышения СА 125 в сыворотке крови является стадиейспецифическим, т. е. частота и уровни маркера тем выше, чем выше стадия заболевания: при I–II стадии СА 125 повышается примерно в 50 % случаев, а при III–IV стадии — у всех пациенток. У больных с асцитическими формами рака яичников уровень маркера в сыворотке крови может превышать значения 10 000–20 000 МЕ/мл. Регрессия опухоли при эффективном химиотерапевтическом или химиолучевом лечении либо удаление ее хирургическим путем сопровождается уменьшением содержания СА 125 в крови. Он коррелирует с ремиссией заболевания при химиотерапевтическом и химиолучевом лечении. Повышение уровня СА 125 в крови связано с прогрессированием опухолевого процесса. Для оценки эффективности химиотерапии необходимо исследовать его уровень в крови перед началом каждого курса лечения, а после ее завершения — с периодичностью 1–2 мес. В большинстве случаев начало повышения уровня СА 125 в крови опережает клинические проявления рецидива заболевания на 4–6 мес. (в отдельных случаях — на 9–10 мес.).

В отличие от серозного рака яичников, когда повышенный уровень СА 125 в сыворотке крови выявляют у 60–81 % пациенток, при других гистологических типах рака яичников (муцинозный, эндометриодный и светлоклеточный) его содержание повышается в 25–30 % случаев. При тератомах и дисгерминомах яичников повышенный уровень СА 125 в крови регистрируют лишь у отдельных пациенток с наличием асцита и метастазов в брюшной полости.

СА 125 является полезным маркером для оценки эффективности лечения и раннего обнаружения рецидивов эндометриоза, который занимает второе место после рака яичников по числу больных с повышенным содержанием СА 125. Повышение уровня СА 125 в крови коррелирует со стадией эндометриоза: при I–II стадии концентрация маркера повышена у 25 % больных, а при III–IV стадии — у 54 %. Как правило, концентрация СА 125 в сыворотке крови у таких пациенток не превышает 65 МЕ/мл, а у больных эндометриозом яичников составляет в среднем  $46,0 \pm 17,0$  МЕ/мл [Алексеева М. Л. и др., 1995].

Уровень СА 125 повышается у 15–30 % больных со злокачественными опухолями железистого генеза — ЖКТ, поджелудочной железы, бронхов, молочной железы. Значения СА 125 в сыворотке крови у этих пациентов, превышающие 150–200 МЕ/мл, свидетельствуют о вовлечении в процесс серозных оболочек.

**Определение содержания СА 125 в сыворотке крови применяют для:**

- диагностики рецидивов рака яичника;
- мониторинга лечения и контроля течения рака яичников;
- диагностики новообразований родовых путей, брюшины, плевры;
- диагностики серозного выпота в полости (перитонит, плеврит);
- диагностики эндометриоза.

#### **1.10.6. Карбогидратный антиген СА 72-4 в сыворотке крови**

**Референтные величины СА 72-4 в сыворотке крови 0–4,6 МЕ/мл.**

СА 72-4 — муциноподобный гликопротеин с молекулярной массой 400 000 Да. Он экспрессируется во многих тканях плода и практически не обнаруживается в тканях взрослого человека. Однако уровень СА 72-4 повышается в сыворотке крови больных, страдающих такими злокачественными опухолями железистого генеза, как карцинома желудка, толстой кишки, яичников, легких. Особенно высокая концентрация СА 72-4 в крови определяется при карциноме желудка. При уровне cutoff 3 МЕ/мл СА 72-4 имеет специфичность 100 % и предельную чувствительность 48 % для карциномы желудка при дифференциации ее с доброкачественными желудочно-кишечными заболеваниями [Mann K., 1988]. СА 72-4 является полезным маркером для мониторинга течения заболевания и эффективности терапии при карциноме желудка.

Определение СА 72-4 имеет важное значение при слизеобразующей карциноме яичника. У больных серозным раком яичников повышенный уровень СА 72-4 обнаруживают в 42–54 % случаев, а при муцинозном раке яичников — в 70–80 %. В связи с этим СА 72-4 необходимо использовать в качестве специфического маркера муцинозного рака яичников, а сочетанное определение СА 125 и

СА 72-4 — как дополнительный метод в дифференциальной диагностике доброкачественных и злокачественных опухолей яичников (повышенный уровень СА 72-4 с вероятностью более 90 % свидетельствует о злокачественном процессе).

Повышенный уровень СА 72-4 изредка обнаруживается при доброкачественных и воспалительных процессах.

**Определение содержания СА 72-4 в сыворотке крови применяют для:**

- мониторинга бронхогенного немелкоклеточного рака легкого;
- мониторинга лечения и контроля течения рака желудка;
- диагностики рецидивов рака желудка;
- дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных опухолей яичников;
- мониторинга лечения и контроля течения муцинозного рака яичников.

### 1.10.7. Раковый антиген СА 15-3 в сыворотке крови

Референтные величины СА 15-3 в сыворотке крови до 27 МЕ/мл, в III триместре беременности — до 40 МЕ/мл. Период полужизни — 7 дней.

СА 15-3 — антиген мембраны клеток метастазирующей карциномы молочной железы. У здоровых лиц может определяться на эпителии секретирующих клеток и в секретах. СА 15-3 обладает достаточно высокой специфичностью по отношению к карциноме молочной железы в сравнении с доброкачественными заболеваниями ее. Лишь иногда выявляется небольшое повышение маркера (до 50 МЕ/мл) у больных циррозом печени. СА 15-3 главным образом используют для мониторинга течения заболевания и эффективности лечения рака молочной железы [Stieber P. et al., 1988]. При прочих опухолях (карцинома яичников, шейки матки и эндометрия) повышение уровня маркера наблюдается только на поздних стадиях развития.

Определение концентрации СА 15-3 используют для мониторинга лечения и диагностики рецидивов рака молочной железы и легких.



### 1.10.8. Бета-хорионический гонадотропин в сыворотке крови

Референтные величины  $\beta$ -хорионического гонадотропина ( $\beta$ -ХГ) в сыворотке крови: у взрослых — до 5 МЕд/мл; при беременности 7–10 дней — более 15 МЕд/мл, 30 дней — 100–5000 МЕд/мл, 10 нед. — 50 000–140 000 МЕд/мл, 16 нед. — 10 000–50 000 МЕд/мл. Период полужизни — в среднем 2,8 дня.

ХГ — гормон, состоящий из двух субъединиц —  $\alpha$  и  $\beta$ , нековалентно связанных между собой;  $\alpha$ -субъединица идентична  $\alpha$ -субъединице лютеинизирующего, фолликулостимулирующего и тиреотропного гормонов гипофиза,  $\beta$ -субъединица специфична для ХГ.

$\beta$ -ХГ — гликопротеид, выделяемый синцитиальным слоем трофобласта во время беременности. Он поддерживает активность и существование желтого тела, стимулирует развитие эмбриобласта. Выделяется с мочой. Обнаружение  $\beta$ -ХГ в сыворотке крови служит методом ранней диагностики беременности и патологии ее развития. В онкологии определение  $\beta$ -ХГ используется для контроля за лечением трофобластических и герминогенных опухолей. У мужчин и небеременных женщин патологическое повышение уровня  $\beta$ -ХГ является признаком наличия злокачественной опухоли. Заболевания и состояния, при которых изменяется уровень  $\beta$ -ХГ в крови, представлены в табл. 1.67.

Таблица 1.67

Заболевания и состояния, при которых изменяется уровень  $\beta$ -ХГ в крови

Увеличение концентрации	Снижение концентрации
Беременность	Снижение концентрации относительно фазы беременности свидетельствует о наличии: <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ внематочной беременности</li> <li>▪ повреждения плаценты во время беременности</li> <li>▪ угрозы выкидыша</li> </ul>
Герминогенные опухоли (хорионэпителиома)	
Пузырный занос	
Пороки развития нервного канала плода, синдром Дауна	
При неполном удалении плодного яйца во время аборта	
Трофобластическая опухоль	

Увеличение концентрации	Снижение концентрации
Тератома яичка	
Многоплодная беременность	
Менопауза	
Эндокринные нарушения	
Семинома	

Чувствительность определения уровня  $\beta$ -ХГ в крови при карциноме яичника и плаценты — 100 %, при хорионаденоме — 97 %, при несеминоматозных герминомах — 48–86 %, при семиноме — 7–14 %. Повышенный уровень  $\beta$ -ХГ наблюдается у 100 % больных с опухолями трофобласта и у 70 % больных с несеминомными опухолями яичка, содержащими элементы синцитиотрофобласта. Опухоль, содержащая  $10^4$ – $10^5$  трофобластических клеток, продуцирует 1 МЕд/мл  $\beta$ -ХГ, определяемого в крови или моче [Стрижаков А. Н., Баев О. Р., 1995]. Снижение уровня  $\beta$ -ХГ при лечении трофобластических опухолей может служить критерием эффективности терапии и благоприятного прогноза, поскольку подавляется рост наиболее агрессивных элементов опухоли.

Среди плацентарных трофобластических опухолей распространенность неинвазивной хорионаденомы составляет 1 случай на 2000 беременностей, а инвазивной хорионаденомы и хорионэпителиомы — 1 случай на 100 000 беременностей.

Герминомы яичек относятся к одним из наиболее частых онкологических заболеваний молодых мужчин (20–34 лет). В связи с тем что гистологический тип опухоли может меняться в ходе терапии, рекомендуется проводить сочетанное определение  $\beta$ -ХГ и АФП при герминомах. Семиномы, дисгерминомы и дифференцированные тератомы всегда АФП-негативны, опухоли желчного мешка в чистом виде всегда АФП-позитивны, в то время как карциномы или комбинированные опухоли в зависимости от массы эндодермальных структур могут быть либо АФП-позитивными, либо АФП-негативными. Таким образом, для гермином  $\beta$ -ХГ является более важным маркером, чем АФП. Совместное определение АФП и  $\beta$ -ХГ особенно показано в ходе лечения гермином. Профили этих двух маркеров могут не совпадать. Концентрация АФП снижается до нормальных

значений в течение 5 дней после радикальной операции, отражая уменьшение общей массы опухоли. После химиотерапии или радиотерапии, напротив, концентрация АФП отразит лишь уменьшение числа АФП-продуцирующих клеток, а поскольку клеточный состав гермином смешанный, определение  $\beta$ -ХГ необходимо для оценки эффективности терапии.

Сочетанное определение АФП и  $\beta$ -ХГ позволяет достичь 86 % чувствительности при диагностике рецидивов несеминоматозных опухолей яичка. Возрастающая концентрация АФП и/или  $\beta$ -ХГ указывает (часто на несколько месяцев раньше других диагностических методов) на прогрессирование опухоли и, следовательно, на необходимость изменения лечения. Изначально высокие значения АФП и  $\beta$ -ХГ в крови говорят о плохом прогнозе.

#### **1.10.9. Антиген плоскоклеточной карциномы в сыворотке крови**

**Референтные величины антигена плоскоклеточной карциномы (SCC) в сыворотке крови до 2 нг/мл. Период полужизни — 20 мин.**

SCC представляет собой гликопротеид с молекулярной массой 42 000 Да. Наиболее часто определение этого маркера применяют для мониторинга течения и эффективности терапии плоскоклеточной карциномы шейки матки (чувствительность — 70–85 %), носоглотки и уха. SCC является маркером выбора для мониторинга течения и эффективности терапии плоскоклеточной карциномы шейки матки [Meier W. et al., 1989]. Определение уровня SCC в крови не только позволяет обнаружить рецидив на ранней стадии, но и отражает реакцию уже обнаруженной карциномы на проводимую терапию. Повышенный уровень SCC выявляется в 17 % случаев немелкоклеточного рака и в 31 % случаев плоскоклеточной карциномы легких (специфичность — 95 %). Курение не оказывает влияния на уровень SCC.

#### **1.10.10. Простатический специфический антиген в сыворотке крови**

**Референтные величины простатического специфического антигена (ПСА) в сыворотке крови: у мужчин до 40 лет — до 2,5 нг/мл, после 40 лет — до 4,0 нг/мл. Период полужизни — 2–3 дня.**

ПСА — гликопротеид, выделяемый клетками эпителия канальцев предстательной железы. В связи с тем что ПСА образуется в парауретральных железах, только очень малые количества его могут обнаруживаться у женщины. Значительное повышение уровня ПСА в сыворотке крови иногда обнаруживается при гипертрофии предстательной железы, а также при воспалительных ее заболеваниях. При уровне cutoff 10 нг/мл специфичность по отношению к доброкачественным заболеваниям предстательной железы составляет 90 % [Ambruster D., 1993]. Пальцевое ректальное исследование, цистоскопия, колоноскопия, трансуретральная биопсия, лазерная терапия, задержка мочи также могут вызвать более или менее выраженный и длительный подъем уровня ПСА. Влияние этих процедур на уровень ПСА максимально выражено на следующий день после их проведения, причем наиболее значительно — у больных с гипертрофией простаты. Исследование ПСА в таких случаях рекомендуется проводить не ранее чем через 7 дней после перечисленных процедур.

Уровень ПСА имеет тенденцию к увеличению с возрастом, поэтому понятие допустимой верхней границы нормы для разных возрастных групп различно (табл. 1.68).

Таблица 1.68

Допустимые нормальные значения ПСА в зависимости от возраста

Показатель	Возраст, годы			
	40–49	50–59	60–69	70–79
ПСА, нг/мл	2,5	3,5	4,5	6,5

Исследование ПСА применяют для диагностики и мониторинга лечения рака предстательной железы, при котором его концентрация увеличивается, а также для мониторинга состояния пациентов с гипертрофией простаты в целях как можно более раннего обнаружения рака этого органа. Уровень ПСА выше 4,0 нг/мл обнаруживается примерно у 80–90 % больных раком и у 20 % больных аденомой предстательной железы. Таким образом, повышение уровня ПСА в крови не всегда свидетельствует о наличии злокачественного процесса. В нашей стране у 50 % больных доброкачественная гиперплазия предстательной железы сопровождается хроническим простатитом. Алгоритм стандартного обследования для диагностики рака предстательной железы представлен на схеме 1.14.

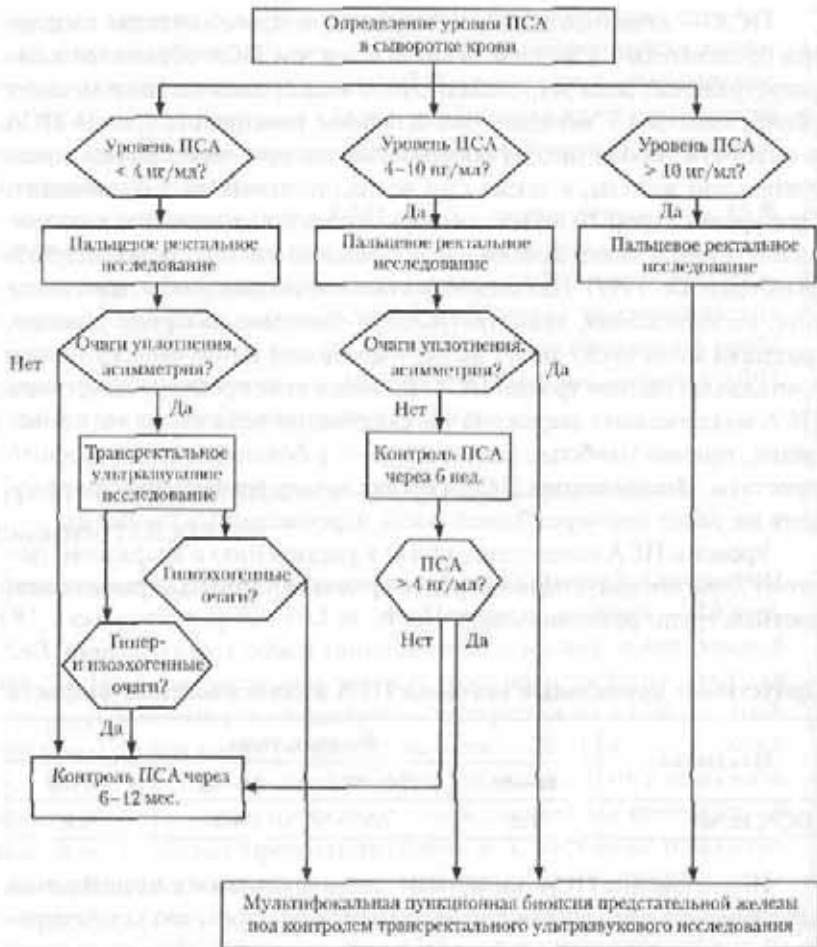


Схема 1.14. Алгоритм стандартного обследования для диагностики рака предстательной железы

Увеличение уровня ПСА в крови у больных раком предстательной железы происходит быстрее, чем у больных с доброкачественной гиперплазией. Уровень общего ПСА более 50 нг/мл указывает на экстракапсулярную инвазию в 80 % случаев и поражение региональных лимфатических узлов у 66 % больных раком предстательной железы. Имеется корреляция между уровнем ПСА в крови и

степенью злокачественности опухоли. В настоящее время считается, что увеличение ПСА до 15 нг/мл и выше вместе с низкодифференцированным типом опухоли в 50 % случаев указывает на экстракапсулярную инвазию и должно приниматься во внимание при определении объема оперативного вмешательства. При значениях ПСА от 4 до 15 нг/мл частота выявления рака составляет 27–33 %. Значения ПСА выше 4 нг/мл выявляются у 63 % больных раком предстательной железы стадии T<sub>1</sub> и у 71 % больных — стадии T<sub>2</sub>. Однако значения уровня ПСА выше 4 нг/мл постепенно утрачивают свое значение как cutoff. В ряде исследований показано, что 36,5 % пациентов с раком предстательной железы имеют уровень ПСА в пределах 2–4 нг/мл [Schroder F. H. et al., 2000]. Около 80 % раковых очагов, обнаруженных при значениях ПСА 2–3,9 нг/мл, находятся в пределах предстательной железы по сравнению с 62 % при ПСА от 4 до 9,9 нг/мл и 39 % при ПСА 10 нг/мл и более [Catalina W. J. et al., 2000]. При оценке уровня ПСА в крови необходимо ориентироваться на следующие показатели:

- 0–4 нг/мл — норма;
- 4–10 нг/мл — подозрение на рак предстательной железы;
- 10–20 нг/мл — высокий риск рака предстательной железы;
- 20–50 нг/мл — риск диссеминированного рака предстательной железы;
- 50–100 нг/мл — высокий риск метастазов в лимфатические узлы и отдаленные органы;
- более 100 нг/мл — всегда метастатический рак предстательной железы.

Мониторинг концентрации ПСА обеспечивает более раннее обнаружение рецидива и метастазирования, чем прочие методы. При этом изменения даже в пределах границ нормы являются информативными. После тотальной простатэктомии ПСА не должен выявляться, его обнаружение свидетельствует об остаточной опухолевой ткани, региональных или отдаленных метастазах. Следует учитывать, что уровень остаточной концентрации находится в пределах от 0,05 до 0,1 нг/мл, любое превышение этого уровня указывает на рецидив. Уровень ПСА определяют не ранее чем через 60–90 дней после операции в связи с возможными ложноположительными результатами из-за незавершенного клиренса ПСА, присутствовавшего в крови до простатэктомии.

При эффективной лучевой терапии уровень ПСА должен снижаться в течение первого месяца в среднем на 50%. Его уровень снижается и при проведении эффективной гормональной терапии. Контроль за уровнем ПСА у больных с леченным раком предстательной железы следует проводить каждые 3 месяца, что позволяет своевременно выявить отсутствие эффекта от проводимой терапии.

Определение уровня ПСА в сыворотке применяют для диагностики и мониторинга лечения рака простаты, а также в качестве диспансерного теста у всех мужчин старше 50 лет.

### 1.10.11. Свободный простатический специфический антиген в сыворотке крови

Содержание свободного ПСА в сыворотке крови в норме составляет более 15% от общего ПСА. Период полужизни — 7 ч.

Клиническая ценность определения ПСА в крови значительно возрастает при определении различных его форм, соотношение которых соответствует виду патологического процесса, протекающего в предстательной железе. В сыворотке крови ПСА находится в двух формах: свободной и связанной с различными антипротеазами. Большая часть ПСА находится в комплексе с  $\alpha_1$ -антихимотрипсином. Незначительная часть ПСА связана с  $\alpha_2$ -макроглобулином и не определяется обычными ИФА-методами. Уровень свободного ПСА меняется в зависимости как от индивидуальных особенностей организма, так и от вида заболевания предстательной железы. При раке предстательной железы в клетках опухоли не только повышается продукция ПСА, но и значительно возрастает синтез  $\alpha_1$ -антихимотрипсина, в результате увеличивается количество связанной и снижается содержание свободной фракции ПСА при увеличении общей концентрации этого антигена. Как следствие, содержание свободной фракции ПСА в сыворотке крови при раке предстательной железы значительно ниже, чем в норме и при доброкачественном процессе. На этом основана дифференциальная диагностика рака и гиперплазии этого органа.

Сущность исследования заключается в параллельном определении общего ПСА и свободной фракции ПСА и расчете процента их соотношения:

$$\frac{\text{Свободный ПСА}}{\text{Общий ПСА}} \times 100 \%$$

Определение свободной фракции ПСА показано при увеличении общего ПСА. При значениях этого соотношения ниже 15 % требуется проведение ультразвукового исследования и биопсии. Если этот показатель выше 15 %, необходимо наблюдение и повторное обследование через 6 мес. Вероятность рака предстательной железы, основанная на значениях общего и свободного ПСА, приведена в табл. 1.69 [Catalona W. J. et al., 1998].

Таблица 1.69

## Вероятность рака предстательной железы

Уровень общего ПСА, нг/мл	Вероятность рака, %	Свободный ПСА, %	Вероятность рака, %
0–2	1	0–10	56
2–4	15	10–15	28
4–10	25	15–20	20
> 10	> 50	20–25	16
		> 25	8

### 1.10.12. Нейронспецифическая енолаза в сыворотке крови

Референтные величины нейронспецифической енолазы (НСЕ) в сыворотке крови до 13,2 нг/мл.

НСЕ — цитоплазматический гликолитический фермент, присутствующий в клетках нейроэктодермального происхождения, нейронах головного мозга и периферической нервной ткани. Повышение содержания НСЕ в сыворотке крови имеет место при мелкоклеточном раке легкого и нейроblastомах, лейкозах, после лучевой и рентгенотерапии, после рентгенологического обследования. Концентрация НСЕ до 20 нг/мл и более может встречаться при доброкачественных заболеваниях легких, поэтому для клинической диагностики злокачественных заболеваний предпочтителен выбор уровня cutoff более 25 нг/мл [Ebert W. et al., 1990]. Необходимо помнить, что НСЕ присутствует в эритроцитах, поэтому гемолиз завышает результаты исследования.



НСЕ-тест наиболее показан для диагностики и мониторинга эффективности терапии при мелкоклеточном раке легкого. Уровень НСЕ выше 25 нг/мл отмечается у 60 % больных, выше 70 нг/мл — у 40 % больных с мелкоклеточным раком легкого. Сочетанное определение НСЕ и фрагмента цитокератина-19 (CYFRA-21-1) увеличивает чувствительность диагностики карциномы легкого до 62 %, в то время как при комбинации НСЕ и РЭА достигается чувствительность 57 %.

Уровень НСЕ является ценным показателем при нейробластоме: при значении cutoff 25 нг/мл чувствительность по отношению к данной опухоли составляет 85 % [Cooper E. H. et al., 1987].

**Определение уровня НСЕ в сыворотке крови необходимо для диагностики и мониторинга лечения мелкоклеточного рака легкого, нейробластомы.**

### 1.10.13. CYFRA-21-1 в сыворотке крови

**Референтные величины CYFRA-21-1 в сыворотке крови до 3,3 нг/мл.**

Цитокератины — нерастворимые каркасные белки. В отличие от цитокератинов, фрагменты цитокератина растворимы в сыворотке. Цитокератины играют важную роль в дифференциации тканей. CYFRA-21-1 обладает хорошей специфичностью по отношению к доброкачественным заболеваниям легких, уровень cutoff 3,3 нг/мл обеспечивает специфичность 95 %. Незначительный подъем уровня CYFRA-21-1 до 10 нг/мл обнаруживается при прогрессирующих доброкачественных заболеваниях печени и, особенно, при почечной недостаточности [Hasholzner U. et al., 1993].

CYFRA-21-1 является маркером выбора для немелкоклеточной карциномы легкого. При специфичности 95 % CYFRA-21-1 имеет значительно более высокую чувствительность (49 %), чем РЭА (29 %). Чувствительность CYFRA-21-1 при плоскоклеточной карциноме легких заметно выше (60 %), чем чувствительность РЭА (18 %). CYFRA-21-1 и РЭА обнаруживают сходную диагностическую чувствительность (42 и 40 % соответственно) при аденокарциноме легких. Сочетание этих двух маркеров увеличивает чувствительность до 55 % [Hasholzner U. et al., 1993].

CYFRA-21-1 — наиболее эффективный из всех известных маркеров для мониторинга течения мышечно-инвазивной карциномы

мочевого пузыря. При специфичности 95 % CYFRA-21-1 имеет чувствительность 56 % для инвазивных опухолей всех стадий. Чувствительность CYFRA-21-1 зависит от стадии заболевания: 4 % — в I стадии, более 33 % — во II стадии, 36 % — в III стадии и до 73 % — в IV стадии рака мочевого пузыря [Broers J. L. et al., 1988].

Более 50 % опухолей мочевого пузыря не инфильтрируют мышечный слой. Они легко обнаруживаются при урологическом обследовании. Труднее диагностировать инвазивные опухоли. Мониторинг маркера CYFRA-21-1 во многих случаях позволяет выявлять такие формы карцином мочевого пузыря.

#### 1.10.14. Онкомаркер HER-2/neu в сыворотке крови

**Референтные величины онкомаркера HER-2/neu в сыворотке крови менее 15 нг/мл.**

Онкомаркер HER-2/neu — рецептор человеческого эпидермального фактора роста — белок, обнаруживаемый на нормальных клетках эпидермального происхождения, имеет молекулярную массу 185 000 Да. Он состоит из трех функциональных частей: внутренней (цитозольной), короткой трансмембранной и экстрацеллюлярной. Цитоплазматический участок молекулы рецептора HER-2/neu обладает тирозинкиназной активностью и ответственен за передачу сигнала трансдукции. Гидрофобная трансмембранная часть соединяет внутриклеточный цитозольный и экстрацеллюлярный концы рецептора. В результате протеолитических процессов экстрацеллюлярная часть рецептора HER-2/neu попадает в кровь, где может быть идентифицирована. Она представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 97 000–115 000 Да.

До последнего времени наличие рецепторов HER-2/neu у больных раком молочной железы определяли гистохимически после пункции опухоли. Эти рецепторы обнаруживают только у 20–30 % женщин с раком молочной железы. Основной целью гистохимического исследования является определение показаний для лечения герцептином (антитела к рецепторам HER-2/neu), которое показано при обнаружении более 10 % позитивных клеток (2+ или 3+). Однако в дальнейшем оказалось, что значительная часть больных раком молочной железы положительно реагируют

на лечение герцептином при отрицательном результате гистохимического исследования.

В настоящее время получены тест-системы для количественного определения уровня HER-2/neu в сыворотке крови, который хорошо коррелирует с данными гистохимического исследования. Повышение уровня HER-2/neu в сыворотке крови наблюдают у женщин с раком молочной железы, особенно при наличии метастазов. В качестве cut-off используют величину 15 нг/мл. Значения выше этого уровня свидетельствуют о HER-2/neu-положительном раке молочной железы. Повышенный уровень HER-2/neu тесно коррелирует с плохим прогнозом, низкой выживаемостью и агрессивным течением заболевания (такие опухоли обладают высокой пролиферативной и метастатической активностью). Эффективная специфическая (герцептин), гормональная и химиотерапия сопровождаются снижением уровня HER-2/neu в сыворотке крови. Содержание HER-2/neu и других онкомаркеров в сыворотке крови у больных с метастазами рака молочной железы приведено в табл. 1.70.

Таблица 1.70

**Уровень онкомаркеров в сыворотке крови у больных с метастазами рака молочной железы [Kish L. et al., 2002]**

Онкомаркер	Наличие HER-2/neu в сыворотке крови	
	негативные (< 15 нг/мл)	положительные (> 15 нг/мл)
HER-2/neu, нг/мл	11,2 ± 2,3	284,8 ± 819,3
CA 15-3, МЕ/мл	101,2 ± 16,7	163,2 ± 249,8
НСЕ, нг/мл	4,5 ± 8,1	61,6 ± 215,4

**Определение содержания HER-2/neu в сыворотке крови применяют для:**

- мониторинга женщин с метастатическим раком молочной железы;
- подбора пациентов к проведению специфической терапии (герцептин);
- диагностики рецидивов рака молочной железы;
- определения прогноза и течения рака молочной железы;
- мониторинга специфической терапии, а также лечения гормональными и химиотерапевтическими препаратами.

### 1.10.15. Онкомаркер СА 242 в сыворотке крови

**Референтные величины СА 242 в сыворотке крови менее 20 МЕ/мл.**

СА 242 — гликопротеин, который экспрессируется на том же муциновом апопротеине, что и СА 19-9. В доброкачественных опухолях экспрессия СА 242 низкая, а в случае злокачественных опухолей, напротив, его экспрессия значительно выше по сравнению с СА 19-9. В связи с этим при доброкачественных заболеваниях ЖКТ возможны только единичные случаи повышения уровня СА 242, в то время как большой процент пациентов с повышенными уровнями СА 19-9 страдает обструктивными заболеваниями желчевыводящих путей, панкреатитами и заболеваниями печени. СА 242 — новый онкомаркер для диагностики и оценки эффективности лечения рака поджелудочной железы, рака толстого кишечника и прямой кишки.

Чувствительность маркера СА 242 при раке поджелудочной железы выше по сравнению с чувствительностью СА 19-9 на всех стадиях заболевания (при I стадии по Dukes — 41 и 29% соответственно). При раке толстого кишечника и прямой кишки СА 242 является более чувствительным, чем другие онкомаркеры (чувствительность СА 242 — 40%, специфичность — 90%; чувствительность СА 19-9 — 23%). Совместное использование СА 242 и СА 19-9 не увеличивает диагностическую чувствительность теста. Комбинация СА 242 и РЭА повышает чувствительность теста в отношении диагностики рака толстого кишечника и прямой кишки на 25–40%. Выживаемость у пациентов с раком толстого кишечника при уровне СА 242 более 20 МЕ/мл после оперативного лечения составляет менее 1,5 лет, при уровне менее 20 МЕ/мл — более 5 лет.

### 1.10.16. Опухолевый антиген мочевого пузыря (ВТА) в моче

**ВТА в моче в норме не обнаруживается.**

Рак мочевого пузыря занимает четвертое место по распространенности форм рака у мужчин и девятое — у женщин. Каждый пятый пациент в настоящее время умирает от этого заболевания в течение 5 лет. Определение ВТА в моче является скрининговым методом для диагностики рака мочевого пузыря, а также для динамического

наблюдения за пациентами после оперативного лечения. Антиген выявляется у 70–80 % больных при раке мочевого пузыря в стадии T<sub>1-3</sub> и у 58 % при раке *in situ* [Jonston B. et al., 1997]. При эффективном оперативном лечении ВТА в моче исчезает, его появление свидетельствует о рецидиве заболевания. Следует иметь в виду, что исследование на выявление опухолевого антигена мочевого пузыря может быть ложноположительным при гломерулонефрите, инфекциях и травмах мочевыводящих путей вследствие попадания крови в мочу [Escaf Barmadah S. et al., 1998]. В настоящее время разработаны диагностические тест-системы для качественного и количественного определения ВТА в моче.

Таблица 1.71

**Чувствительность и специфичность методов скрининга рака мочевого пузыря**

Метод	Чувствительность, %	Специфичность, %
Цитологическое исследование осадка мочи	44	95
ВТА stat Test	67	79
ВТА TRAK Test	72	80
NMP-22	53	60
Продукты деградации фибриногена и фибрина	52	91
Теломераза	70	99
Хемиллюминесценция гемоглобина	67	63
Гемоглобин	47	84

Среди качественных тестов наибольшее распространение получили ВТА stat Test и ВТА TRAK Test. Первый из них является иммунохроматографическим методом, позволяющим производить с использованием моноклональных антител быстрый специфический анализ антигена опухоли мочевого пузыря в моче. Большим достоинством метода является простота и доступность выполнения в амбулаторных условиях. Для исследования берется моча пациента, 5 капель которой вносится в тест-лунку. Результат оценивается спустя 5 мин. Он считается положительным, если в окошечке появится розовая или красно-коричневая полоска. ВТА TRAK Test более сложен в исполне-

нии, поэтому выполняется лабораторией. По своим диагностическим возможностям он несколько точнее в определении антигена опухоли мочевого пузыря в моче и может применяться самостоятельно или для подтверждения положительного результата ВТА stat Test.

Кроме ВТА-теста, существует целый ряд неспецифических и специфических маркеров рака мочевого пузыря. К ним относятся факторы роста, иммунные комплексы, опухоль-связанные протеины, опухолевый маркер В-5, антитела М-344, NMP-22, определение концентрации продуктов деградации фибриногена и фибрина в моче, теломеразы мочи, хемилюминесценции гемоглобина в моче и ряд других. Чувствительность и специфичность методов скрининга рака мочевого пузыря представлены в табл. 1.71 [Ramakumar S. et al., 1999].

### 1.10.17. Бета-2-микроглобулин в сыворотке крови и моче

**Референтные величины  $\beta_2$ -МГ:** в сыворотке крови — 660–2740 нг/мл, в моче — 3,8–251,8 нг/мл. Период полужизни — 40 мин.

$\beta_2$ -МГ — низкомолекулярный белок поверхностных антигенов клеточных ядер. Присутствие его в сыворотке обусловлено процессами деградации и репарации отдельных элементов клеток.  $\beta_2$ -МГ свободно проходит через мембрану почечных клубочков, 99,8 % его затем реабсорбируется в проксимальном отделе почечных канальцев. Уменьшение клубочковой фильтрации способствует повышению уровня  $\beta_2$ -МГ в сыворотке крови, нарушение функции почечных канальцев приводит к экскреции больших количеств  $\beta_2$ -МГ с мочой. Верхний предел реабсорбционной способности почечных канальцев достигается при концентрации  $\beta_2$ -МГ в сыворотке крови 5000 нг/мл [Bataille R. et al., 1992]. К состояниям, при которых повышается уровень сывороточного  $\beta_2$ -МГ, относятся: аутоиммунные заболевания, нарушения клеточного иммунитета (например, пациенты со СПИДом), состояния после трансплантации органов. Повышение уровня  $\beta_2$ -МГ в СМЖ у больных лейкемией свидетельствует о вовлечении в процесс ЦНС. Определение  $\beta_2$ -МГ в крови и моче проводят больным при диагностике гломерулонефрита и канальцевых нефропатий, а также для выяснения прогноза у пациентов с неходжкинскими лимфомами и, в особенности, у пациентов с

множественной миеломой (больные с повышенным уровнем имеют значительно более низкую продолжительность жизни, чем больные с нормальными значениями).

Определение  $\beta_2$ -МГ необходимо для мониторинга лечения гемобластозов, миеломы, контроля активации лимфоцитов при трансплантации почки.

**Концентрация  $\beta_2$ -МГ в крови повышается** при почечной недостаточности, острых вирусных инфекциях, иммунодефицитах, в том числе СПИДе, аутоиммунных заболеваниях, гемобластозах (В-клеточных), миеломе, острых лейкозах и лимфомах с поражением ЦНС.

**Концентрация  $\beta_2$ -МГ в моче повышается** при диабетической нефропатии, интоксикации тяжелыми металлами (соли кадмия).

Некоторые исследователи отмечают повышение концентрации  $\beta_2$ -МГ в СМЖ при первичных опухолях мозга (например, глиомах) и предлагают использовать его в качестве раннего индикатора поражения ЦНС при рецидивах лейкемии и лимфомы. Пациенты с поражением ЦНС при лейкемии имеют более высокие концентрации  $\beta_2$ -МГ, чем больные лейкемией без неврологических симптомов. Подобные наблюдения описаны и для лимфомы. Очень важно, что при этом отмечается в среднем трехкратное снижение концентрации  $\beta_2$ -МГ в СМЖ в период клинической ремиссии после интратекальной химиотерапии. В то же время известно, что  $\beta_2$ -МГ в СМЖ — неспецифический маркер, который может повышаться при многих заболеваниях, включая инфекции ЦНС. Кроме того, из-за малого размера молекулы этого белка его концентрация в СМЖ может повышаться при нарушении проницаемости гематоэнцефалического барьера (рассеянный склероз, энцефаломенингит, опухоль). В этой связи рекомендуется одновременно определять концентрацию  $\beta_2$ -МГ в сыворотке крови и СМЖ.

### **1.10.18. Пируваткиназа М2-типа в сыворотке крови**

**Референтные величины пируваткиназы М2-типа в сыворотке крови менее 15,0 Ед/л (90 % специфичность), пограничные значения — 15–20 Ед/л, патологические значения — 20 Ед/л и выше.**

Большинство опухолей человека характеризуются избыточной продукцией изомерной формы пируваткиназы, получившей название опухолевой пируваткиназы М2-типа (ПК-М2). Этот изомер высвобождается из опухолевых клеток в кровотоки, где его содержание может быть определено количественно с использованием ИФА-метода. Повышенный уровень ПК-М2 в крови указывает на наличие в организме человека клеток со специфическим опухолевым метаболизмом независимо от их происхождения и локализации и высоко коррелирует со степенью злокачественности (стадии), но не гистологическим типом опухоли.

ПК-М2 является высокоспецифическим опухолевым белком, не обладающим органоспецифичностью, поэтому может быть маркером выбора для диагностики, мониторинга течения и оценки эффективности лечения различных опухолей.

Наиболее часто в клинической практике определение ПК-М2 используют для диагностики опухолей почки, в отношении которых он обладает высокой чувствительностью и специфичностью. В комбинации с другими маркерами ПК-М2 служит для диагностики и мониторинга течения рака легкого и молочной железы, опухолей ЖКТ (пищевода, желудка, толстой и прямой кишки, поджелудочной железы).

### 1.10.19. Алгоритм исследования онкомаркеров

**Специфичность опухолевых маркеров (ОМ)** — процент здоровых лиц и больных с доброкачественными новообразованиями, у которых тест дает отрицательный результат.

**Чувствительность ОМ** — процент результатов, которые являются истинно положительными в присутствии данной опухоли.

**Пороговая концентрация (cutoff)** — верхний предел концентрации ОМ у здоровых лиц и больных незлокачественными новообразованиями.

**Факторы, влияющие *in vitro* на уровень ОМ в крови:**

- условия хранения сыворотки (нужно хранить в холоде);
- время между взятием образца и центрифугированием (не более 1 ч);
- гемолизованный и иктеричный сыворотка (повышается уровень НСЕ);



- контаминация образца (повышается уровень РЭА и СА 19-9);
- прием лекарственных препаратов (повышают уровень ПСА: аскорбиновая кислота, эстрадиол, ионы 2- и 3-валентных металлов, аналоги гуанидина, нитраты, митамидин).

**Факторы, влияющие *in vivo* на уровень ОМ в крови:**

- продукция опухолью ОМ;
- выделение в кровь ОМ;
- масса опухоли;
- кровоснабжение опухоли;
- суточные вариации (взятие крови на исследование в одно и то же время);
- положение тела в момент взятия крови;
- влияние инструментальных исследований (рентгенография повышает НСЕ, колоноскопия и пальцевое исследование — ПСА, биопсия — АФП);
- катаболизм ОМ — функционирование почек, печени, холестаза;
- алкоголизм, курение.

**Определение ОМ в клинической практике:**

- дополнительный метод диагностики онкологических заболеваний в комбинации с другими исследованиями;
- ведение онкологических больных — мониторинг терапии и контроль течения заболевания, идентификация остатков опухоли, множественных опухолей и метастазов (концентрация ОМ может быть повышена после лечения за счет распада опухоли, поэтому исследование следует проводить спустя 14–21 день после начала лечения);
- раннее обнаружение опухоли и метастазов (скрининг в группах риска — ПСА и АФП);
- прогноз течения заболевания.

**Схема назначения исследований ОМ:**

- 1) определить уровень ОМ перед лечением и в дальнейшем исследовать те онкомаркеры, которые были повышены;
- 2) после курса лечения (операции) исследовать через 2–10 дней (соответственно периоду полужизни маркера) с целью установления исходного уровня для дальнейшего мониторинга;
- 3) для оценки эффективности проведенного лечения (операции) провести исследование спустя 1 мес.;

Таблица 1.72

## Определение опухолевых маркеров

Опухоль (локализация)	Маркер														
	РЭА	АФП	СА 19-9	СА 72-4	СА 125	СА 15-3	НСЕ	МСА	SCC	Суфра-21-1	$\beta$ -ХГ	ПСА	КТ	ТГ	СА 242
Рак толстой кишки (прямой кишки)	■		◆												◆
Рак поджелудочной железы	●		■												■
Рак желудка	◆		●	■											
Рак пищевода	●								●						
Гепатокарцинома		■													
Рак билиарных протоков		◆	■												
Рак молочной железы	■					■		■							
Рак яичников	●			◆	■										
Рак шейки матки	◆								■						
Мелкоклеточный рак легкого	●						■			◆					
Немелкоклеточный рак легкого	■			◆		■				■					

Окончание табл. 1.72

Опухоль (локализация)	Маркер														
	РЭА	АФП	СА 19-9	СА 72-4	СА 125	СА 15-3	НСЕ	МСА	SCC	Cyfra-21-1	$\beta$ -ХГ	ПСА	КТ	ТГ	СА 242
Рак предстательной железы												■			
Рак мочевого пузыря										●					
Рак щитовидной железы	●												■	■	
Опухоли носоглотки	●								■						
Герминогенные опухоли яичка и яичника		■									■				
Хорионкарцинома											■				

Примечание. КТ — кальцитонин; ■ — высокая степень значимости маркера для конкретной опухоли; ◆ — средняя степень значимости для конкретной опухоли; ● — дополнительный маркер для конкретной опухоли.

1.10. Исследование онкомаркеров

- 4) дальнейшее изучение уровня ОМ в крови проводить 1 раз в месяц в течение 1-го года после лечения, 1 раз в 2 месяца в течение 2-го года после лечения, 1 раз в 3 месяца в течение 3–5 лет (рекомендации ВОЗ);
- 5) проводить исследование ОМ перед любым изменением лечения;
- 6) определять уровень ОМ при подозрении на рецидив и метастазирование;
- 7) определять уровень ОМ через 3–4 нед. после первого выявления повышенной концентрации.

Для рационального использования ОМ необходимо, чтобы получаемая в результате тестирования информация не только была сама по себе корректной, но и представляла практическую ценность, т. е. позволяла выявлять заболевание или оценивать риск его возникновения у относительно здоровых лиц, и/или помогала врачу поставить больному правильный диагноз, позволяла делать прогностические выводы, помогала контролировать течение заболевания и оценивать эффективность проводимой терапии.

Если в ходе исследования ни одна из перечисленных целей не достигается, исследование можно считать излишним.

Схема рационального использования ОМ для диагностики онкологических заболеваний приведена в табл. 1.72.

## Глава 2

### Серологические исследования

В основе всех серологических реакций лежит взаимодействие антигена и антитела. Серологические реакции используются в двух направлениях.

1. *Обнаружение с диагностической целью антител в сыворотке крови обследуемого.* В этом случае из двух компонентов реакции (антитело, антиген) неизвестным является сыворотка крови, так как постановка реакции проводится с заведомо известными антигенами. Положительный результат реакции свидетельствует о наличии в крови антител, гомологичных применяемому антигену; отрицательный результат указывает на отсутствие таковых. Достоверные результаты получают при исследовании парных сывороток крови больного: одной, взятой в начале заболевания (3–7-й день), и второй — через 10–12 дней. В этом случае удается наблюдать динамику нарастания антител. При вирусных инфекциях лишь 4-кратное и большее повышение титра антител во второй сыворотке имеет диагностическое значение.

В качестве антигенов при диагностике бактериальных инфекций применяют взвеси живых или убитых микроорганизмов, их экстракты или отдельные фракции экстрактов.

При диагностике вирусных инфекций в качестве антигенов используют аллантоисную, амниотическую жидкость, суспензии аллантоисных оболочек и желточных мешков куриных эмбрионов, жидкую фракцию и экстракт клеток тканевых культур или гомогенаты органов животных, зараженных определенными вирусами.

С внедрением в практику лабораторий метода ИФА стало возможным определять в крови больных антитела, относящиеся к различным классам иммуноглобулинов (IgM и IgG), что существенно повысило информативность серологических методов диагностики. При первичном иммунном ответе, когда иммунная система человека взаимодействует с инфекционным агентом в первый раз, синтезируются преимущественно антитела, относящиеся к иммуноглобулинам класса М. Лишь позднее, на 8–12-й день после попадания антигена в организм, в крови начинают накапливаться антитела иммуноглобулинов класса G. При повторном контакте с антигеном уже с первых часов развития иммунного ответа количество сывороточных антител IgG против данного возбудителя инфекционного заболевания превышает количество антител класса IgM. Поэтому количественное определение в крови пациента антител классов IgG и IgM к соответствующему антигену позволяет не только судить о наличии заболевания, но и оценить, первичное это инфицирование или вторичное. При иммунном ответе на инфекционные агенты вырабатываются также и антитела класса A (IgA), которые играют важную роль в защите от инфекционных агентов кожи и слизистых оболочек.

В последние годы прогресс в области серологических исследований связан с разработкой тест-систем для определения avidности специфических антител к возбудителям различных инфекционных заболеваний.

*Авидность* — характеристика прочности связи специфических антител с соответствующими антигенами. В ходе иммунного ответа организма на проникновение инфекционного агента стимулированный клон лимфоцитов начинает вырабатывать сначала специфические IgM-антитела, а несколько позже и специфические IgG-антитела. IgG-антитела обладают поначалу низкой avidностью, то есть достаточно слабо связывают антиген. Затем развитие иммунного процесса постепенно (это могут быть недели или месяцы) идет в сторону синтеза лимфоцитами высокоспецифичных (высокоавидных) IgG-антител, более прочно связывающихся с соответствующими антигенами. На основании этих закономерностей иммунного ответа организма в настоящее время разработаны тест-системы для определения avidности специфических IgG-антител при различных инфекционных заболеваниях. Высокая avidность

специфических IgG-антител позволяет исключить недавнее первичное инфицирование и тем самым с помощью серологических методов установить период инфицирования пациента. В клинической практике наиболее широкое распространение нашло определение avidности антител класса IgG при токсоплазмозе и цитомегаловирусной инфекции, что дает дополнительную информацию, полезную в диагностическом и прогностическом плане при подозрении на эти инфекции, в особенности при беременности или планировании беременности.

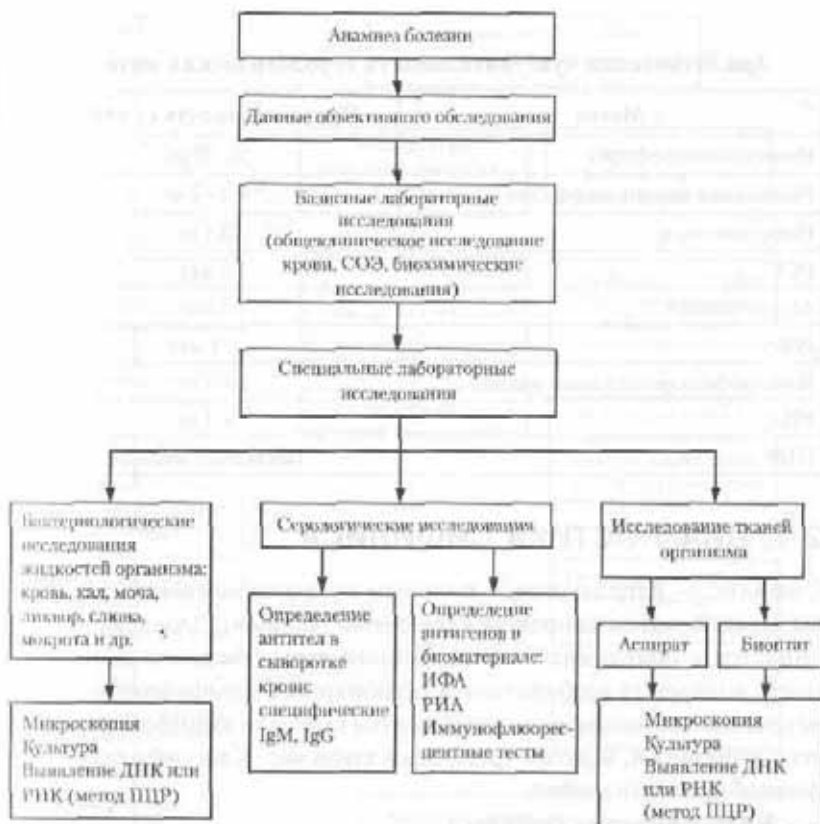
2. *Установление родовой и видовой принадлежности микроба или вируса.* В этом случае неизвестным компонентом реакции является антиген. Такое исследование требует постановки реакции с заведомо известными иммунными сыворотками.

Серологические исследования, выполняемые для обнаружения специфических антител и антигена возбудителя при инфекционных заболеваниях, — более доступные методы лабораторной диагностики, чем бактериологическое выявление возбудителя. В ряде случаев серологические исследования являются единственным методом диагностики инфекционных заболеваний.

Вместе с тем для диагностики инфекционных заболеваний почти всегда используется комплекс лабораторных методов. Для того чтобы практический врач лучше понимал место и значение каждого из методов, приводим основные подходы к диагностике инфекционных заболеваний, которые представлены на схеме 2.1 [Kumar P., Clark M., 1994].

При оценке результатов исследований следует иметь в виду, что положительный результат серологического исследования при одновременном культуральном выделении бактерий или вирусов, но при отсутствии клинической картины заболевания свидетельствует о бессимптомном инфекционном процессе. Отрицательный результат серологического исследования в этих же условиях позволяет рассматривать выделение микроорганизмов как кратковременное носительство. Поэтому динамика серологических реакций в комплексе с другими методами исследований оказывает наиболее существенную помощь в диагностике и определении прогноза течения инфекционного заболевания.

Серологические исследования не обладают 100 % чувствительностью и специфичностью в отношении диагностики инфекци-



**Схема 2.1.** Основные подходы к лабораторной диагностике инфекционных заболеваний

онных заболеваний, могут давать перекрестные реакции с антителами, направленными к антигенам других возбудителей. Поэтому оценивать результаты серологических исследований необходимо с большой осторожностью и учетом клинической картины заболевания. Именно этим обусловлено использование для диагностики одной инфекции множества тестов, а также применение метода Western-blot для подтверждения результатов скрининговых методов. Данные о сравнительной *аналитической* чувствительности серологических методов приведены в табл. 2.1 [Кашкин К. П., Бехало В. А., 2004].



Таблица 2.1

## Аналитическая чувствительность серологических методов

Метод	Чувствительность (в 100 мл)
Иммуноэлектрофорез	5–10 мг
Радиальная иммунодиффузия	< 1–2 мг
Нефелометрия	0,1 мг
РСК	1 мкг
Агглютинация	1 мкг
ИФА	< 1 мкг
Иммунофлюоресцентный анализ	< 1 пг
РИА	< 1 пг
ПЦР	Несколько молекул

## 2.1. ДИАГНОСТИКА СИФИЛИСА

Сифилис — передающееся половым путем заболевание, которое вызывает бледная спирохета (*Treponema pallidum*). Заболевание начинается с появления безболезненной язвы (твердого шанкра) в месте внедрения возбудителя и регионарного лимфаденита. Через некоторое время инфекция становится генерализованной: развивается вторичный, а затем третичный сифилис. Классификация сифилиса приведена ниже.

**Классификация сифилиса**

1. Первичный — развивается спустя 10–90 сут (в среднем через 21 сут) после заражения.
2. Вторичный — развивается спустя 2–6 мес. после заражения или 2–10 нед. после появления твердого шанкра.
3. Латентный (скрытый) — стадия болезни, при которой серологические реакции положительны, а какие-либо признаки поражения кожи, слизистых и внутренних органов отсутствуют:
  - ранний латентный — менее 2 лет с начала заболевания;
  - поздний латентный — более 2 лет с начала заболевания;
  - неуточненный латентный.
4. Третичный — развивается через 3–7 лет после начала заболевания (от 2 до 60 лет), гуммы появляются через 15 лет.
5. Врожденный.

## 2.1. Диагностика сифилиса

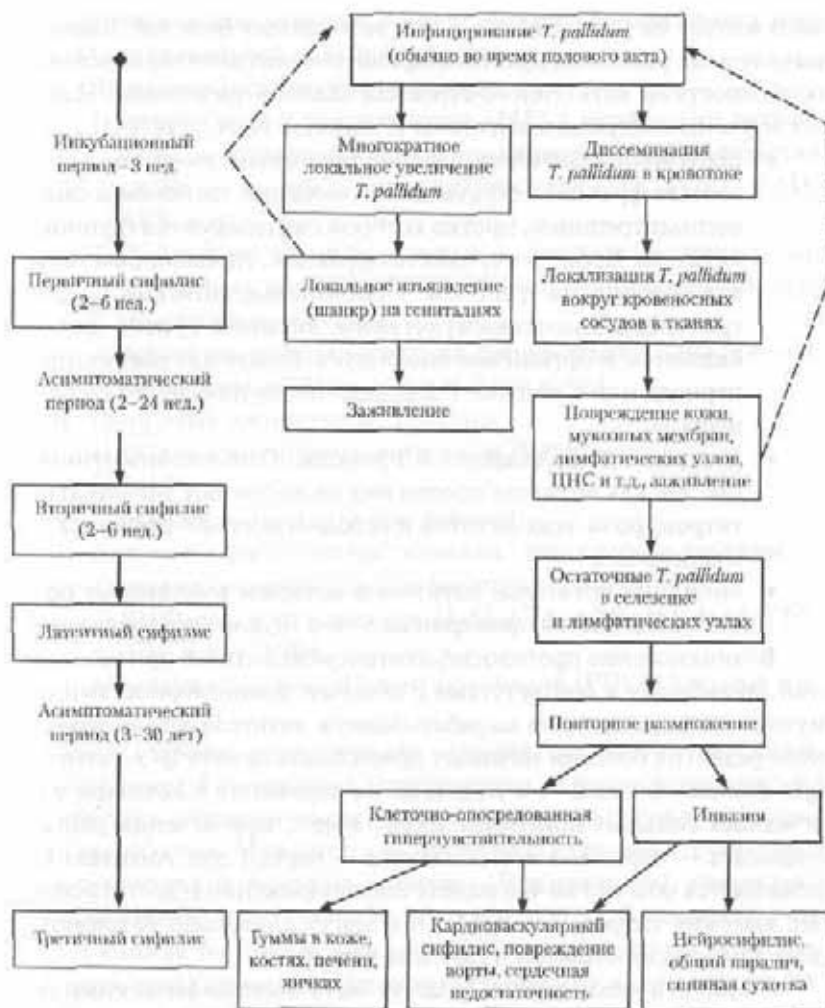


Схема 2.2. Патогенез сифилиса

Патогенез сифилиса представлен на схеме 2.2 [Schaechter M. et al., 1993].

Для диагностики сифилиса наиболее широко используются серологические методы, позволяющие обнаруживать иммунные сдвиги (появление противосифилитических антител) в организме боль-

ного в ответ на размножение в нем возбудителя болезни. Характер выявляемых у больных противосифилитических антител обусловлен особенностями антигенного строения бледной трепонемы. Наиболее изучены следующие антигены [Родионов А. Н., 1997]:

- протеиновые антигены бледной трепонемы, имеющие в своем составе фракцию, общую для патогенных трепонем и сапрофитных трепонем, против которой синтезируются групповые антитела. Кроме того, имеется фракция, специфичная только для патогенных трепонем. Протеиновые антигены бледной трепонемы высокоиммуногенны, антитела против них появляются в организме больного в конце инкубационного периода или в течение 1-й недели после появления твердого шанкра;
- антигены полисахаридной природы. Они малоиммуногенны, так как антитела против них не достигают значительных титров; роль этих антител в серодиагностике сифилиса незначительна;
- липидные антигены, антитела к которым в организме больного появляются примерно на 5–6-й неделе после заражения.

Возникновение противосифилитических антител при заболевании происходит в соответствии с общими закономерностями иммунного ответа: вначале вырабатываются антитела класса IgM, по мере развития болезни начинает преобладать синтез IgG. Антитела IgM появляются на 2–4-й неделе после заражения и исчезают у нелеченных больных примерно через 18 мес., при лечении раннего сифилиса — через 3–6 мес., позднего — через 1 год. Антитела IgG появляются обычно на 4-й неделе после заражения и достигают более высоких титров, чем IgM. Они могут длительно сохраняться даже после клинического излечения больного.

Сифилитические антитела могут быть неспецифическими (реагины) и специфическими (противотрепонемными). Реагины направлены против липидных антигенов бледной трепонемы и против аутоантигенов, возникающих вследствие деструкции клеток больного. Уровень реагинов может повышаться при различных физиологических и патологических состояниях, поэтому такие реагины могут стать причиной ложноположительных серологических реакций на сифилис. Специфические антитрепонемные антитела направлены против бледной трепонемы.

Серологические реакции, в зависимости от выявляемых ими антител, подразделяются на три группы:

I. Липидные (реагиновые) реакции:

- 1) микрореакция преципитации (МР) с липидными антигенами — с плазмой крови и инактивированной сыворотки крови — экспресс-метод диагностики (МР, VDRL, CMF, RPR и др.);
- 2) РСК с липидными антигенами — реакция Вассермана, качественная и количественная методика постановки, термостатная и на холоде;
- 3) осадочные реакции (реакция преципитации Кана, цитохоловая реакция Закса—Витебского и др.).

II. Групповые трепонемные реакции:

- 1) РСК с протеиновым антигеном Рейтера;
- 2) РИФ;
- 3) реакция иммунного прилипания.

III. Видоспецифические протеиновые трепонемные реакции:

- 1) реакция иммобилизации бледных трепонем (РИТ);
- 2) РИФ-abc и ее варианты (IgM-FTA-ABS, 19S-IgM-FTA-ABS и др.), ИФА;
- 3) реакция пассивной гемагглютинации (РПА) бледных трепонем.

Многообразие серологических реакций для диагностики сифилиса приводит к ненужным затруднениям. В целях упорядочения применения серологических реакций для диагностики сифилиса были разработаны Методические указания «Постановка отборочных и диагностических тестов на сифилис» [Приложение 1, утверждено приказом Минздрава России № 87 от 26.03.2001]. В связи с тем что использование тестов для диагностики сифилиса строго регламентировано, ниже приведены основные положения данных Указаний.

Для серо- и ликвородиагностики сифилиса в России могут применяться следующие методы:

1. МР с кардиолипидным антигеном, которая является отборочным тестом при обследовании населения на сифилис. Постановка МР осуществляется с плазмой или инактивированной сывороткой крови. Зарубежные тесты VDRL, RPR и другие, аналогичные МР как по принципу постановки реакции, так и по чувствительности и специфичности.

2. ИФА. Антиген из культуральных или патогенных бледных трепонем.
3. РПГА. Антиген из культуральных или патогенных бледных трепонем.
4. РИФ в следующих модификациях: РИФ-абе, РИФ-ц, РИФ с капиллярной кровью из пальца. Антигенпатогенная бледная трепонема штамма Никольса.
5. Комплекс серологических реакций на сифилис (КСР), состоящий из РСК с трепонемным и кардиолипновым антигенами и МР. Поскольку трепонемный антиген является специфическим, КСР относится к диагностическим тестам. В связи с разработкой более чувствительных, специфичных и менее трудоемких реакций стало возможным заменить при постановке КСР реакцию связывания комплемента на ИФА или РПГА также в сочетании с МР.
6. РИТ, в которой в качестве антигена используют патогенные бледные трепонемы штамма Никольса.

РИТ, РИФ, ИФА и РПГА являются высокочувствительными и высокоспецифичными реакциями на сифилис. Они относятся к диагностическим подтверждающим тестам. При этом в связи с простотой постановки и наличием коммерческих тест-систем ИФА и РПГА могут быть и высокоэффективными отборочными тестами.

Ввиду различной чувствительности при разных формах сифилиса, специфичности и сложности постановки каждая из указанных реакций имеет свое предназначение.

Профилактическое обследование населения на сифилис можно проводить с помощью МР, КСР, ИФА и РПГА. Все организационные вопросы по применению данных реакций с этой целью решаются органами здравоохранения на местах в зависимости от местных условий и возможностей.

При получении положительного результата в МР пациент должен обследоваться дерматовенерологом с повторным исследованием крови в любом диагностическом тесте на сифилис.

При профилактическом обследовании на сифилис больных глазных, психоневрологических, кардиологических стационаров, беременных, в частности направляемых на искусственное прерывание беременности, должны использоваться КСР, ИФА или РПГА.

При обследовании доноров необходимо применять КСР, или ИФА, или РПГА, но обязательно в сочетании с МР. Постановка двух реакций одновременно обусловлена высокой ответственностью данного исследования.

МР в количественном варианте с экономической точки зрения необходимо использовать в качестве контроля эффективности лечения, заменив ею количественную постановку РСК с кардиолипновым антигеном.

Вышеуказанные специфические тесты служат для диагностики всех форм сифилиса, в частности скрытого, а также для распознавания ложноположительных результатов, полученных в МР и КСР. При диагностике скрытого сифилиса целесообразна постановка двух специфических тестов одновременно.

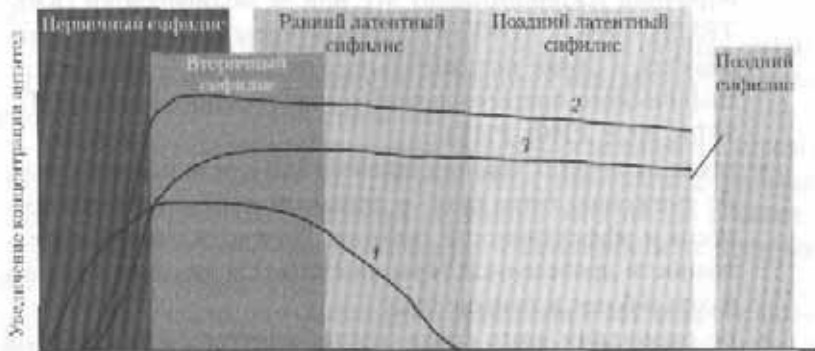
Поскольку ИФА и РПГА являются более высокочувствительными, специфическими и воспроизводимыми тест-системами, которые можно использовать в качестве отборочных и подтверждающих тестов, необходимо осуществить до 2006 г. замену КСР вышеуказанными реакциями при диагностике сифилиса.

Таким образом, последовательность обследования пациентов на сифилис представляется следующим образом:

- при первичном обследовании производится постановка отборочной (скрининговой) МР или ее модификации (RPR, TRUST-ТРАСТ, VDRL) в количественном и качественном вариантах, в случае положительного результата — любого специфического подтверждающего трепонемного теста (РПГА, ИФА, КСР, РИФ, РИТ);
- после окончания терапии ставится МР или ее модификация, по снижению титра судят о динамике инфекционного процесса и эффективности терапии. Подтверждением эффективности проведенной терапии считается снижение титра в 4 раза и более в течение года;
- по окончании этого срока осуществляется постановка той же специфической реакции, что и при первичном обследовании. Следует учитывать, что специфические трепонемные тесты могут оставаться положительными (не негативировать) в течение ряда лет, а в отдельных случаях остаются положительными на всю жизнь.

Методика постановки и суть различных модификаций МР, ИФА, РПГА, РИФ, РСК и РИТ подробно описаны в указанных Методических указаниях.

Из специфических реакций на сифилис наиболее широкое применение нашли реакции РИТ и РИФ. Они необходимы для диагностики скрытых и поздних форм сифилиса, распознавания ложноположительных результатов РСК и МР, особенно у беременных и соматических больных, при клиническом, эпидемиологическом и анамнестическом подозрении на данную инфекцию, для установления ретроспективного диагноза заболевания, а также для оценки эффективности лечения. Но главным показанием к постановке РИТ является наличие положительных результатов при использовании РСК и МР у лиц без клинических и анамнестических признаков сифилиса, в то время как при диагностике первичного серонегативного сифилиса лучшим тестом является РИФ. Отсутствие специфических антител в сыворотке крови или обнаружение их в низких титрах возможно и при других формах сифилиса, главным образом в поздней стадии заболевания, в связи с чем параллельная постановка нескольких специфических серологических тестов повышает возможность выявления больных сифилисом. Диагноз скрытого



**Рис. 2.1.** Появление классов антител на различных стадиях сифилиса и способность различных скрининговых тестов дифференцировать стадии инфекции:

1 — антирепономный IgM; 2 — антирепономный IgG; 3 — антилипидильные антитела

сифилиса требует обязательного подтверждения положительными специфическими серологическими реакциями.

Для диагностики сифилиса, распознавания ложноположительных результатов РСК и МР, особенно у беременных и соматических больных, при клиническом, эпидемиологическом и анамнестическом подозрении на сифилис допускается замена РИФ и РИТ реакциями ИФА и РПГА [приказ МЗ РФ № 286 от 1993 г.].

На рис. 2.1 отражены появление классов антител в крови на различных стадиях сифилиса и способность различных скрининговых тестов дифференцировать стадии инфекции. В табл. 2.2 и 2.3 представлены результаты серодиагностики сифилиса различными методами, используемыми в лабораториях [Ткачев В. К., 1996].

Таблица 2.2

Совпадение результатов, полученных разными методами серодиагностики сифилиса, с результатами РИФ

	Метод			
	РПГА	МР	РСК	ИФА
Совпадение с РИФ, %	89	77	85	94

Таблица 2.3

Совпадение результатов, полученных разными методами серодиагностики сифилиса, с результатами РИФ + РПГА

	Метод		
	МР	РСК	ИФА
Совпадение с РИФ + РПГА, %	83	86	98

### 2.1.1. Реакция микропреципитации с кардиолипиновым антигеном

Реакция МР с кардиолипиновым антигеном на сифилис в норме отрицательная.

МР позволяет выявить антитела к кардиолипиновому антигену бледной спирохеты. МР при изолированном применении явля-



ется не диагностическим, а отборочным тестом, в связи с чем на основании ее позитивности диагноз сифилиса не устанавливается, а пациенту проводят диагностические тесты (РСК, ИФА). С помощью МР обследуют лиц, подлежащих периодическим медицинским осмотрам на венерические болезни, больных соматическими заболеваниями и др.

Существует несколько вариантов микрореакций — VDRL (Venereal Disease Research Laboratory), TRUST (Toluidine Red Unheated Serum Test), RST (Reagin Screen Test), RPR (Rapid Plasma Reagin) и др. RPR-тест (микрореакция преципитации плазмы с кардиолипидным антигеном) бывает положительной в 78 % случаев при первичном сифилисе и в 97 % — при вторичном. VDRL-тест (микрореакция преципитации инактивированной сыворотки с кардиолипидным антигеном) положителен при первичном сифилисе в 59–87 % случаев, при вторичном — в 100 %, при позднем латентном — в 79–91 %, при третичном — в 37–94 % [Henry J. B., 1996]. МР обычно отрицательны в первые 7–10 дней после появления твердого шанкра.

В случае положительных результатов VDRL- и RPR-тестов можно определить титр реакиновых антител. Высокий титр (более 1:16) обычно указывает на активный процесс, низкий титр (менее 1:8) — на ложноположительный результат исследования (в 90 % случаев), а также может быть при позднем или позднелатентном сифилисе.

Исследование титра антител в динамике используется для оценки эффективности лечения. Падение титра указывает на положительный ответ на проводимое лечение. Адекватное лечение первичного или вторичного сифилиса должно сопровождаться 4-кратным снижением титра антител к 4-му месяцу и 8-кратным — к 8-му месяцу. Лечение раннего латентного сифилиса обычно приводит к концу года или к отрицательной реакции, или к слабopоложительной. Подъем титра в 4 раза указывает на рецидив, реинфекцию или неэффективность терапии и требует проведения повторного курса лечения. При вторичном, позднем или латентном сифилисе низкие титры могут сохраняться у 50 % пациентов дольше 2 лет, несмотря на падение титра. Это не указывает на неэффективное лечение или реинфекцию, так как эти пациенты остаются серологически положительными, даже если повторить курс лечения. Следует учитывать, что изменение титров при позднем или латентном сифилисе часто

непредсказуемо и оценка эффективности лечения по ним затруднительна.

Чтобы дифференцировать врожденный сифилис, пассивное носительство материнской инфекции, новорожденным необходимо провести серию исследований с определением титра антител: подъем титра в течение 6 мес. после рождения свидетельствует о врожденном сифилисе, в то время как при пассивном носительстве антитела исчезают к 3-му месяцу.

При оценке результатов VDRL- и RPR-тестов у детей грудного возраста с врожденным сифилисом необходимо помнить о феномене прозоны. Сущность данного феномена состоит в том, что для агглютинации антигенов и антител в данных реакциях необходимо, чтобы антигены и антитела находились в крови в соответствующих количествах. Когда количество антител значительно превышает количество антигенов, агглютинация не происходит. У некоторых детей грудного возраста с врожденным сифилисом уровни антител в сыворотке настолько велики, что в неразбавленной сыворотке не происходит агглютинации антител и неспецифических антигенов, используемых для диагностики сифилиса (тесты VDRL и RPR нереактивны). Поэтому у детей, обследуемых с целью диагностики врожденного сифилиса, может иметь место феномен прозоны. Для избежания ложноотрицательных результатов в таких случаях необходимо проводить исследования с разведением сыворотки и без него.

Микрореакция VDRL может быть негативной при раннем, позднем латентном и позднем сифилисе приблизительно в 25 % случаев, а также у 1 % больных вторичным сифилисом. В таких случаях необходимо использовать трепонемные тесты.

Ложноположительная реакция МР может быть при ревматических заболеваниях (СКВ, ревматоидный артрит, склеродермия), инфекциях (мононуклеоз, малярия, микоплазменная пневмония, активный туберкулез, скарлатина, бруцеллез, лептоспироз, корь, эпидемический паротит, венерическая лимфогранулема, ветряная оспа, трипаносомозы, проказа, хламидиоз), беременности (редко), в старческом возрасте (около 10 % людей в возрасте старше 70 лет могут иметь ложноположительную МР), хроническом лимфоцитарном тиреоидите, гемобластозах, приеме некоторых гипотензивных средств, при наследственной или индивидуальной особенностях.

## 2.1.2. Реакция Вассермана с кардиолипидным и трепонемным антигенами

### Реакция Вассермана с кардиолипидным и трепонемным антигенами в норме отрицательная.

Реакцию Вассермана (РВ) применяют для диагностики всех форм сифилиса, контроля за эффективностью лечения, обследования лиц, имевших половой контакт с больным сифилисом, лиц с клиническим и анамнестическим подозрением на сифилис, а также при профилактическом обследовании на сифилис больных психиатрических и неврологических стационаров, доноров и беременных, в том числе лиц, направляемых на искусственное прерывание беременности. РВ может проводиться как с кардиолипидным, так и трепонемным антигеном. Обычно для скрининга проводят реакцию с кардиолипидным антигеном, трепонемный используется для подтверждения положительных или исключения ложноположительных результатов нетрепонемных тестов, а также диагностики позднего латентного сифилиса (нетрепонемные тесты в этот период могут быть отрицательными).

При первичном сифилисе РВ в большинстве случаев не имеет большого диагностического значения, так как распознавание заболевания, как правило, проводится на основании клинических данных и исследования на бледную спирохету. Однако при наличии подживших язв неясной этиологии, когда в большинстве случаев бледную спирохету найти не удастся, РВ имеет большое значение. Степень выраженности гемолиза в реакции Вассермана оценивается плюсами: полное отсутствие гемолиза — 4+ (РВ резко положительная), едва начавшийся гемолиз — 3+ (РВ положительная), значительный гемолиз — 2+ (РВ слабоположительная), полный гемолиз — РВ отрицательная.

Если данные РВ больного в первичном периоде заболевания сифилисом менее важны для диагностики, то для установления длительности срока лечения и сроков наблюдения они имеют исключительно важное значение. В первые 15–17 дней после появления твердого шанкра РВ обычно отрицательная. В дальнейшем она переходит в положительную, причем процент положительных результатов возрастает с увеличением срока, прошедшего с начала появления шанкра до момента повторного исследования крови.

В первые 5–6 недель заболевания РВ положительна в 0,25 % случаев, на 7–8-й неделе — в 75–80 %, а на 9–10-й неделе — в 100 % [Овчинников Н. М. и др., 1987]. Деление первичного сифилиса на серонегативный (РВ отрицательная) и серопозитивный (РВ положительная) имеет большое значение для определения длительности лечения. Если больных, начавших лечение при первичном серонегативном сифилисе, снимают с учета после полноценного лечения и годичного диспансерного наблюдения, в течение которых в первые 6 мес. РВ назначается ежемесячно, а затем 1 раз в квартал, то при первично серопозитивном сифилисе больных снимают с учета только после полноценного лечения и 3 лет последующего наблюдения. РВ назначается 1 раз в месяц до полной негативации РВ, до окончания второго года — 1 раз в квартал, в течение третьего года — 1 раз в 6 мес.

При вторичном сифилисе РВ положительна почти в 100 % случаев. Отрицательные результаты РВ при свежем нелеченном вторичном сифилисе наблюдаются очень редко. При вторичном рецидивном сифилисе РВ положительна в 98–100 % случаев. Следует отметить, что у истощенных лиц при так называемом злокачественном сифилисе и моносимптомных проявлениях вторичного рецидивного сифилиса РВ может быть отрицательной.

При третичном сифилисе РВ положительна у 70–75 % больных [Овчинников Н. М. и др., 1987].

Наибольшее значение РВ имеет при скрытом сифилисе, так как какие-либо наружные проявления сифилиса в это время отсутствуют. В скрытом периоде сифилиса РВ бывает положительной в 40–96 % случаев в зависимости от длительности заболевания, интенсивности предшествующей терапии и т. д. Диагностическое значение имеют только положительные результаты реакции, отрицательные же роли не играют. Необходимо помнить, что в последние годы наблюдается рост заболеваемости скрытым сифилисом во всех странах.

Большое значение проведение РВ имеет при сифилисе нервной системы. При этих заболеваниях необходимо проводить РВ не только с сывороткой крови, но и со СМЖ, выполняя полное ее исследование. Сопоставление результатов РВ с сывороткой крови и СМЖ может дать ценную информацию для дифференциальной диагностики. Так, при сифилисе головного мозга РВ с сывороткой крови положительна в 60–70 % случаев, а со СМЖ — примерно в

10 %, при прогрессивном параличе она положительна в обоих исследованиях почти в 100 % случаев.

При врожденном сифилисе РВ бывает положительной почти у 100 % детей с проявлениями раннего врожденного сифилиса и у 70–80 % — при позднем врожденном сифилисе.

Под влиянием лечения выраженность положительной РВ начинает быстро снижаться. Особенно наглядно эти изменения видны при оценке эффективности лечения с помощью метода ИФА, который позволяет количественно оценивать результаты исследований. Встречаются больные, у которых, несмотря на полноценное лечение, РВ остается резко положительной и после лечения. В таких случаях говорят о серорезистентном сифилисе.

Положительные результаты РВ на сифилис у лиц, не страдающих этим заболеванием, называют ложноположительными. Частота ложноположительных результатов у здоровых лиц составляет 0,2–0,25 %. Если процент неспецифических ложноположительных результатов РВ у здоровых очень невелик, то при некоторых заболеваниях он может быть высоким. Все неспецифические результаты серологических реакций можно разделить на следующие основные группы.

1. Заболевания, обусловленные наличием общих антигенов у сходных возбудителей: возвратный тиф, фрамбезия, беджель, пинта, трепонема полости рта, лептоспиры.
2. Положительные реакции, обусловленные изменением липидного обмена и изменением в глобулинах сыворотки. К ним относятся положительные результаты у беременных, больных подагрой, нарушения липидного состава в результате отравления свинцом, фосфором, после приема натрия салицилата, дигиталиса и др. В число этих реакций следует включить и положительные реакции при некоторых инфекционных заболеваниях (сыпной тиф, малярия, пневмония, лепра, эндокардит, коллагенозы, инфаркт миокарда, сотрясение мозга, онкологические заболевания, цирроз печени и др.).

Кроме качественной оценки РВ имеется количественная постановка ее с различными разведениями сыворотки крови (1:10, 1:20, 1:80, 1:160, 1:320). Титр реактивов определяется максимальным разведением, еще дающим резко положительный результат (4+). Количественная постановка РВ имеет значение в диагностике некоторых

форм сифилиса и при контроле за успешностью терапии. Оценка эффективности лечения проводится так же, как при микрореакциях.

### 2.1.3. Реакция пассивной гемагглютинации

**Трепонемные антитела в сыворотке крови в норме не определяются.**

РПГА используется для выявления специфических трепонемных антител. Чувствительность и специфичность теста при первичном сифилисе составляет 76 и 99 % соответственно, при вторичном — 100 и 99 %, при позднем — 94 и 99 %, при латентном — 97 и 99 % [Wallach J. M. D., 1996]. РПГА применяется как подтверждающий тест на сифилис и для исключения ложноположительных результатов, полученных в МР.

Результаты исследования РПГА выражаются в титрах, которые могут быть использованы для оценки проводимого лечения, но они значительно уступают МР в этом аспекте. В РПГА используются сенсibilизированные эритроциты, поэтому ложноположительные результаты теста могут быть получены у больных с аутоиммунными заболеваниями, СКВ, вирусными инфекциями (вследствие наличия в сыворотке пациентов большого количества неспецифических антител).

### 2.1.4. Реакция иммунофлюоресценции

**Антитела класса IgG в сыворотке крови в норме не определяются.**

РИФ (FTA-ABS IgG) относится к трепонемным тестам диагностики сифилиса и позволяет выявлять в крови специфические трепонемные антитела класса IgG. Чувствительность и специфичность теста при первичном сифилисе составляет 85 и 97 % соответственно, при вторичном — 99 и 97 %, при позднем — 95 и 97 %, при латентном — 95 и 97 %. FTA-ABS IgG используется для подтверждения диагноза; в случаях, если подозревается поздний сифилис любого типа, необходимо проводить этот тест, даже если МР отрицательная. Титры антител в РИФ не коррелируют с клинической активностью заболевания и остаются повышенными неопределенно долго у 95 % пациентов, отражая наличие инфекции в прошлом. FTA-ABS

IgG не используется для оценки проводимого лечения, так как тест остается положительным в течение 2 лет после адекватного лечения в 80 % случаев серопозитивного раннего сифилиса. В настоящее время тест FTA-ABS IgG не рекомендуется применять для диагностики врожденного сифилиса у новорожденных.

Алгоритм диагностики сифилиса у небеременных, позволяющий исключить ложноположительные результаты исследований, представлен на схеме 2.3 [Wallach J. M. D., 1996].

### 2.1.5. Иммуноферментный метод диагностики сифилиса

**Антитела класса IgM в сыворотке крови в норме не определяются.**

Из всех серологических методов диагностики сифилиса метод ИФА является наиболее чувствительным (свыше 95 %) и специфичным (100 %). При его использовании выявляются специфические (трепонемные) антитела классов IgM и IgG. Антитела класса IgM имеют важное значение для диагностики первичного, вторичного и врожденного сифилиса. Выявление антител IgM говорит о наличии у больного первичного, вторичного или врожденного сифилиса (см. рис. 2.1). Антитела класса IgM выявляются в сыворотке крови со 2-й недели после заражения. В процессе лечения уровень антител класса IgM у больного снижается. По его уровню можно следить за эффективностью проводимого лечения. После успешного лечения уровень антител класса IgM снижается до отрицательных результатов. Определение этих антител имеет важное значение для диагностики ранних форм врожденного сифилиса, дифференциальной диагностики рецидивов, реинфекции [Аковбян В. А., Дмитриев Г. А., 2001]. Тест на определение антител IgM может быть отрицательным в некоторых случаях позднего латентного сифилиса и нейросифилиса. Определение антител IgM методом ИФА имеет очень высокую чувствительность при конгенитальном сифилисе (100 %) и более низкую при первичном сифилисе (82 %), вторичном (60 %), латентном (53 %), нейросифилисе (34 %) и третичном сифилисе (11 %) и очень высокую специфичность [Rich R. R. et al., 2001].

Антитела класса IgG появляются в острый период заболевания и могут сохраняться у вылечившихся пациентов пожизненно.

## 2.1. Диагностика сифилиса

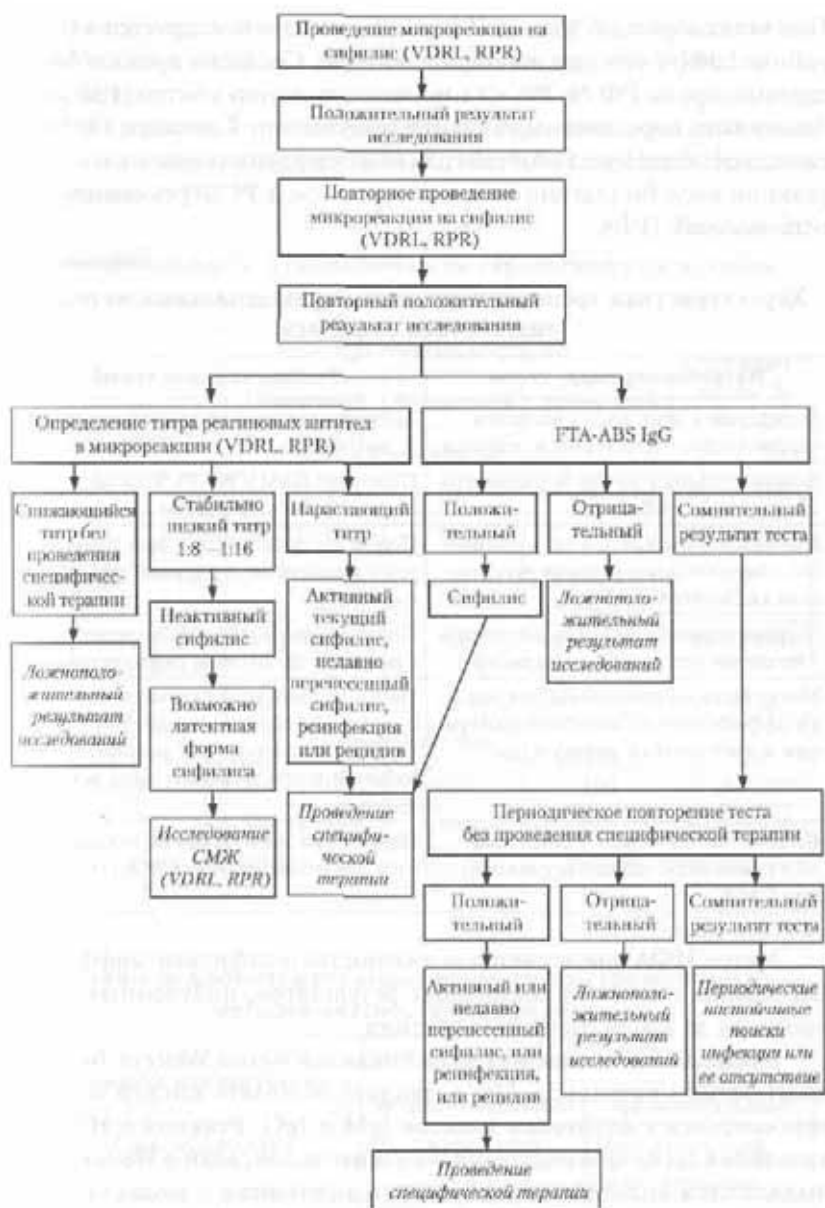


Схема 2.3. Алгоритм диагностики сифилиса



При использовании метода ИФА сифилис диагностируется в более ранние сроки, чем при использовании РВ. Согласно приказу Минздравмедпрома РФ № 286 «О совершенствовании контроля за заболеваниями, передаваемыми половым путем» от 7 декабря 1993 г., в качестве специфического теста для подтверждения сифилиса вместо реакции иммобилизации бледных трепонем и РИФ рекомендуется использовать ИФА.

Таблица 2.4

**Характеристики трепонемальных и нетрепонемальных методов диагностики сифилиса**

Нетрепонемальные тесты	Трепонемальные тесты
Антигеном в этих тестах является кардиолипин, холестерин и лецитин	Антигеном в этих тестах является <i>T. pallidum</i>
Положительны у 80–86 % пациентов с первичным сифилисом	Положительны у 90–95 % пациентов с первичным сифилисом
Положительны почти у всех пациентов с вторичным и ранним латентным сифилисом	Положительны почти у всех пациентов с вторичным и ранним латентным сифилисом
Положительны у 70–75 % пациентов с поздним латентным сифилисом	Положительны у 94–96 % пациентов с поздним латентным сифилисом
Могут быть использованы для оценки эффективности антибиотикотерапии и диагностики реинфекции	Не могут быть использованы для оценки эффективности антибиотикотерапии и диагностики реинфекции (обычно тесты положительны всю жизнь)
Из всех тестов только VDRL слайд-тест рекомендуется для исследования СМЖ	Ни один из этих тестов не рекомендуется для исследования СМЖ

Метод ИФА применяют для диагностики сифилиса, дифференцирования ложноположительных результатов, полученных в РВ, контроля за эффективностью лечения.

Буквально в последние годы появился метод Western-blot для диагностики сифилиса. Он позволяет выявлять спектр белков, относящихся к антителам классов IgM и IgG. Реакция в ИФА на антитела класса IgM считается положительной, если в Western-blot выявляются антитела к мембранным протеинам с молекулярной массой 17 000, 47 000 и 15 000 Да. Western-blot IgM имеет чувствительность 92–94 %, специфичность — 99–100 % и предсказатель-

ную ценность положительного результата — 95 %, а чувствительность Western-blot IgG — 94 %, специфичность — 99 % [Rich R. R. et al., 2001].

Характеристики трепонемальных и нетрепонемальных методов диагностики сифилиса приведены в табл. 2.4–2.6 [Rich R. R. et al., 2001; Murray P. R., 2003].

Таблица 2.5

**Чувствительность и специфичность серологических методов диагностики сифилиса**

Тест	Чувствительность, %			Специфичность, %
	Первичный	Вторичный	Латентный	
Нетрепонемальные				
VLDR	78 (74–87)	100	95 (88–100)	98 (96–99)
RPR	86 (77–100)	100	98 (95–100)	98 (93–99)
RST (Reagin Screen Test)	80 (72–88)	100	95 (88–100)	99
TRUST (Toluidine Red Unheated Serum Test)	85 (77–86)	100	98 (95–100)	99 (98–99)
Трепонемальные				
FTA-ABS IgG	84 (70–100)	100	100	97 (94–100)
РПГА	88 (86–100)	100	100	96 (95–100)
ИФА (IgG)	97 (97–100)	97–100	97–100	99 (98–100)

Таблица 2.6

**Причины ложноположительных результатов серологических методов диагностики сифилиса**

Заболевание или состояние	Тип теста и возможный результат	
	нетрепонемальный	трепонемальный
Аутоиммунные заболевания	Положительный	Положительный
Малярия	»	Отрицательный
Недавняя иммунизация	»	»
Дерматологические заболевания	»	Положительный

Окончание табл. 2.6

Заболевание или состояние	Тип теста и возможный результат	
	нетрепонемальный	трепонемальный
Сердечно-сосудистые заболевания	»	»
Туберкулез	»	Отрицательный
Лепра	»	Положительный
Внутривенное введение лекарств	»	Отрицательный
Вирусные инфекции	»	»
Лихорадочные заболевания	»	Положительный
Беременность	»	Отрицательный
ВИЧ	»	»
Заболевания, передающиеся половым путем	»	»
Возраст	Отрицательный	Положительный
Многokратные переливания крови	Положительный	Отрицательный
Болезнь Лайма (боррелиоз)	Отрицательный	Положительный
Технические ошибки	Положительный	»

### 2.1.6. Метод диагностики сифилиса на основе гелевых технологий

В последние годы в практике клинико-диагностических лабораторий для диагностики сифилиса все активнее применяется метод, в основе которого лежат гелевые технологии. Для постановки реакции используют окрашенные красным цветом полимерные частицы, покрытые рекомбинантными антигенами *Treponema pallidum* (TrN 15, 17, 47), которые при взаимодействии со специфическими антителами сыворотки крови больного дают реакцию агглютинации. Для отделения агглютинированных частиц от неагглютинированных, реакционную смесь центрифугируют в пластиковых диагностических карточках, содержащих микропробирки, заполненные фильтрующим гелевым матриксом. Агглютинированные частицы скапливаются на поверхности геля или распределяются в его толще (положительная реакция), в то время как неагглютинированные частицы об-

разуют компактный осадок на дне микропробирки (отрицательная реакция). Благодаря красному цвету полимерных частиц результат реакции легко регистрировать визуально. По своей сущности метод диагностики сифилиса на основе гелевых технологий является современным исполнением реакции пассивной гемагглютинации.

*Данный метод диагностики сифилиса относится к видоспецифическим протеиновым трепонемным реакциям и обладает очень высокой специфичностью — 99,8 % и достаточной чувствительностью — 91,9 % [Schmidt B. L., 2004].*

## 2.2. ДИАГНОСТИКА ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Для диагностики вирусных инфекций используют множество методов исследования, серологическим исследованиям отводится ведущая роль среди них. Основные методы диагностики вирусных инфекций представлены в табл. 2.7.

В зависимости от важности каждого метода для выявления вирусов они разделены на четыре уровня: А — тест обычно используется для подтверждения диагноза; В — тест полезен в определенных обстоятельствах для диагностики отдельных форм инфекции; С — тест редко используется для целей диагностики, но имеет важное значение для эпидемиологических обследований; D — тест обычно не используется лабораториями в диагностических целях.

Для диагностики вирусных инфекций, помимо выбора оптимального метода анализа, не менее важное значение имеет правильное определение и взятие биоматериала для исследования. В табл. 2.8 приведены рекомендации по выбору оптимального биоматериала для исследования при различных вирусных инфекциях.

### 2.2.1. ВИЧ-инфекция

ВИЧ-инфекция — заболевание, вызываемое вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), длительное время персистирующего в лимфоцитах, макрофагах, клетках нервной ткани, в результате чего развивается медленно прогрессирующее поражение иммунной и нервной систем организма, проявляющееся вторичными инфекциями, опухолями, подострым энцефалитом и другими патологическими изменениями.

Методы диагностики вирусных инфекций

Тип вируса	Метод диагностики и его уровень					Комментарий
	Выделение на культуре клеток и идентификация	Выявление антигена	Иммуномикроскопическая или электронномикроскопическая визуализация	Детекция нуклеиновых кислот (ДНК или РНК) вируса	Определение антител	
1	2	3	4	5	6	7
<i>Adenovirus</i>	A	A	B	C	B	Культура клеток используется для выявления вируса в образцах из материала верхних дыхательных путей; антиген выявляют методом ИФА в кале
<i>Arbovirus</i>	C	D	C	B	A	Вирусная инфекция относится ко 2-му уровню биобезопасности, поэтому для диагностики исследуют уровень антител в крови
<i>Caliciviruses, astroviruses</i> и другие вирусы, вызывающие диарею	C	B	A	B	C	Электронная микроскопия — лучший метод диагностики, однако доступен только для специализированных лабораторий
<i>Cytomegalovirus</i>	A	C	B	B	B	Для диагностики используют определение антител IgM и IgG; ПЦР (выявление ДНК вируса) эффективна для мониторинга терапии

Продолжение табл. 2.7

1	2	3	4	5	6	7
<i>Enterovirus</i>	A	D	D	A	D	Обычно используют выделение вируса на культуре клеток; ПЦР применяют для выявления вируса в СМЖ для диагностики инфекции ЦНС
<i>Epstein—Barr virus</i>	D	D	C	B	A	ПЦР используют для выявления вируса в СМЖ для диагностики инфекции ЦНС, в крови и биоптате вирус-ассоциированной опухоли
<i>Filoviruses</i> и <i>arenaviruses</i>	B	C	B	B	A	Для диагностики используют серологические методы и ПЦР
<i>Hepatitis A virus</i>	C	D	C	B	A	Выявление антител IgM и IgG используют как первичные диагностические тесты
<i>Hepatitis B virus</i>	D	A	C	B	A	Выявление антител и антигенов — основа диагностики и мониторинга лечения
<i>Hepatitis C</i> и <i>G viruses</i>	D	D	D	A	A	Исследование антител наиболее широко применяют для диагностики; ПЦР используют для определения вирусной нагрузки, установления генотипа вируса, подтверждения результатов серологических тестов и мониторинга лечения

Продолжение табл. 2.7

5	6	7
С	В	Обычно обследуют больных с вирусным гепатитом В; исследуют ткань печени для установления репликации вируса гепатита D
С	А	Диагностику инфекции проводят в специализированных лабораториях
В	В	Для быстрой диагностики используют метод иммунофлюоресценции; ПЦР — метод выбора для выявления вируса в СМЖ для диагностики инфекции ЦНС
В	В	ИФА для выявления антител и ПЦР — основные методы диагностики
А	А	Определение антигена р24 и ПЦР (выявление РНК вируса) используют для ранней диагностики; ПЦР важен для мониторинга терапии
А	А	Серологические исследования наиболее широко используют для диагностики инфекции и при эпидемиологических обследованиях; ПЦР также применяют для диагностики, особенно у новорожденных

Продолжение табл. 2.7

5	6	7
А	А	Серологические исследования и ПЦР наиболее широко используют для диагностики инфекции и при эпидемиологических обследованиях
В	А	Серологические исследования наиболее широко используют для диагностики инфекции и при эпидемиологических обследованиях
С	В	Методы выявления антигена — иммунофлюоресценция и ИФА используют для быстрой диагностики инфекции
В	А	Серологические исследования наиболее широко используют для диагностики инфекции; ПЦР — метод выбора для выявления вируса в СМЖ для диагностики инфекции ЦНС
В	А	*
		Методы выявления антигена — иммунофлюоресценция и ИФА используют для быстрой диагностики инфекции
А	Д	ПЦР используют для выявления вируса в тканях и крови

1	2	3	4
<i>Hepatitis D virus</i>	D	C	C
<i>Hepatitis E virus</i>	D	A	B
<i>Herpes simplex virus</i>	A	B	A
<i>Herpes viruses 6, 7 u 8</i>	B	C	C
<i>Human immunodeficiency virus</i>	C	B	D
<i>Human papillomavirus</i>	D	D	C

1	2	3	4
<i>Human parvovirus</i>	D	C	C
<i>Human T-cell lymphotropic viruses</i>	C	D	D
<i>Influenza viruses</i>	A	A	A
<i>Measles viruses</i>	B	C	B
<i>Mumps virus</i>	A	C	B
<i>Parainfluenza viruses</i>			
<i>Polyomaviruses</i>	D	D	C





Продолжение табл. 2.8

Тип вируса	Костный мозг	Кровь	СМЖ	Кал	Отделяемое верхних дыхательных путей <sup>1</sup>	Кожа	Отделяемое гениталий	Слюна	Моча	Отделяемое глаз <sup>2</sup>	Ткани	Амниотическая жидкость
<i>Herpes simplex virus</i>			+	+	+	++	++			+	+	+
<i>Herpesviruses 6</i>	+	++	+								+	
<i>Human immunodeficiency virus</i>		++	+		+		+	+			+	
<i>Human papilloma virus</i>							++				+	
<i>Human parvovirus</i>	++	++									+	+
<i>Human T-cell lymphotropic viruses</i>		++	+		+		+	+			+	
<i>Influenza viruses</i>					++						+	
<i>Measles viruses</i>		++			+	+			+		+	
<i>Mumps virus</i>			+					++	++	+		
<i>Parainfluenza viruses</i>					++						+	
<i>Polyomaviruses</i>			++						++		+	
<i>Poxvirus</i>						++					+	
<i>Respiratory syncytial virus</i>					++						+	

Окончание табл. 2.8

Тип вируса	Костный мозг	Кровь	СМЖ	Кал	Отделяемое верхних дыхательных путей <sup>1</sup>	Кожа	Отделяемое гениталий	Слюна	Моча	Отделяемое глаз <sup>2</sup>	Ткани	Амниотическая жидкость
<i>Rhinoviruses</i>					++						+	
<i>Rotavirus</i>				++								
<i>Rubella virus</i>		+		+	++				+		+	+
<i>Transmissible spongiform encephalopathy agents</i>			++								++	
<i>Varicella-zoster virus</i>	+	+	+		+	++					+	

<sup>1</sup> Включая мокроту, отделяемое носа, промывные воды носа, назофарингеальный аспират и бронхоальвеолярный ливаж.

<sup>2</sup> Включая конъюнктиву, роговицу, слезную жидкость.

<sup>3</sup> Включая новорожденных.

Возбудители — ВИЧ 1-го и 2-го типов (ВИЧ-1, ВИЧ-2) относятся к семейству ретровирусов, подсемейству медленных вирусов. Вирионы являются сферическими частицами диаметром 100–140 нм. Вирусная частица имеет наружную фосфолипидную оболочку, включающую гликопротеины (структурные белки) с определенной молекулярной массой, измеряемой в килодальтонах. У ВИЧ-1 — это gp160, gp120, gp41. Внутренняя оболочка вируса, покрывающая ядро, также представлена белками с известной молекулярной массой — p17, p24, p55 (ВИЧ-2 содержит gp140, gp105, gp36, p16, p25, p55).

В состав генома ВИЧ входит РНК и фермент обратной транскриптазы (ревертазы). Для того чтобы геном ретровируса соединился с геномом клетки-хозяина, вначале с помощью ревертазы происходит синтез ДНК на матрице вирусной РНК. Затем ДНК провируса встраивается в геном клетки-хозяина. ВИЧ обладает выраженной антигенной изменчивостью, значительно превышающей таковую у вируса гриппа.

В организме человека основной мишенью ВИЧ являются Т-лимфоциты, несущие на поверхности наибольшее количество CD4-рецепторов. После проникновения ВИЧ в клетку с помощью ревертазы по образцу своей РНК вирус синтезирует ДНК, которая встраивается в генетический аппарат клетки-хозяина (CD4-лимфоциты) и остается там пожизненно в состоянии провируса. Помимо Т-лимфоцитов-хелперов поражаются макрофаги, В-лимфоциты, клетки нейроглии, слизистой оболочки кишечника и некоторые другие. Причиной снижения количества Т-лимфоцитов (клетки CD4) является не только прямое цитопатическое действие вируса, но и их слияние с инфицированными клетками. Наряду с поражением Т-лимфоцитов у больных ВИЧ-инфекцией отмечается поликлональная активация В-лимфоцитов с увеличением синтеза иммуноглобулинов всех классов, особенно IgG и IgA, и последующим истощением этого отдела иммунной системы. Нарушение регуляции иммунных процессов проявляется также повышением уровня  $\alpha$ -интерферона,  $\beta_2$ -МГ, снижением уровня IL-2. В результате нарушения функции иммунной системы, особенно при снижении числа Т-лимфоцитов (CD4) до 400 и менее клеток в 1 мкл крови, возникают условия для неконтролируемой репликации ВИЧ со значительным увеличением количества вирионов в различных

средах организма. Вследствие поражения многих звеньев иммунной системы человек, зараженный ВИЧ, становится беззащитным перед возбудителями различных инфекций. На фоне нарастающей иммунодепрессии развиваются тяжелые прогрессирующие болезни, которые не встречаются у человека с нормально функционирующей иммунной системой. Это болезни, которые ВОЗ определила как СПИД-маркерные (индикаторные).

Первая группа — заболевания, которые присущи только тяжелому иммунодефициту (уровень CD4 ниже 200). Клинический диагноз ставится при отсутствии анги-ВИЧ-антител или ВИЧ-антигенов.

Вторая группа — заболевания, которые могут развиваться как на фоне тяжелого иммунодефицита, так и в ряде случаев без него. Поэтому в этих случаях необходимо лабораторное подтверждение диагноза.

#### 2.2.1.1. СПИД-индикаторные болезни

##### Первая группа:

- кандидоз пищевода, трахеи, бронхов;
- внелегочный криптококкоз;
- криптоспоридиоз с диареей более 1 мес.;
- цитомегаловирусные поражения различных органов, помимо печени, селезенки или лимфатических узлов, у больного старше 1 мес.;
- инфекция, обусловленная вирусом простого герпеса, проявляющаяся язвами на коже и слизистых оболочках, которые персистируют более 1 мес., а также бронхитом, пневмонией или эзофагитом любой продолжительности, поражающим больного в возрасте старше 1 мес.;
- генерализованная саркома Капоши у больных моложе 60 лет;
- лимфома головного мозга (первичная) у больных моложе 60 лет;
- лимфоцитарная интерстициальная пневмония и/или легочная лимфоидная дисплазия у детей в возрасте до 12 лет;
- диссеминированная инфекция, вызванная атипичными микобактериями (микобактерии комплекса *M. avium-intracellulare*) с внелегочной локализацией или локализацией (дополнительно к легким) в коже, шейных лимфатических узлах, лимфатических узлах корней легких;

- пневмоцистная пневмония;
- прогрессирующая многоочаговая лейкоэнцефалопатия;
- токсоплазмоз головного мозга у больного старше 1 мес.

**Вторая группа:**

- бактериальные инфекции, сочетанные или рецидивирующие у детей до 13 лет (более 2 случаев за 2 года наблюдения): сепсис, пневмония, менингит, поражение костей или суставов, абсцессы, обусловленные гемофильными палочками, стрептококками;
- кокцидиомикоз диссеминированный (внегочная локализация);
- ВИЧ-энцефалопатия (ВИЧ-деменция, СПИД-деменция);
- гистоплазмоз с диареей, персистирующей более 1 мес.;
- изоспороз с диареей, персистирующей более 1 мес.;
- саркома Капоши в любом возрасте;
- лимфома головного мозга (первичная) у лиц любого возраста;
- другие В-клеточные лимфомы (за исключением болезни Ходжкина) или лимфомы неизвестного иммунофенотипа:
  - мелкоклеточные лимфомы (типа лимфомы Беркитта и др.);
  - иммунобластные саркомы (лимфомы иммунобластные, крупноклеточные, диффузные гистиоцитарные, диффузные недифференцированные);
- микобактериоз диссеминированный (не туберкулез) с поражением (помимо легких) кожи, шейных или прикорневых лимфатических узлов;
- туберкулез внегочный (с поражением внутренних органов, помимо легких);
- сальмонеллезная септицемия рецидивирующая;
- ВИЧ-дистрофия (истощение, резкое похудение).

Существует много классификаций СПИДа. Согласно новой классификации, предложенной центром по контролю за заболеваниями в США (табл. 2.9), диагноз СПИДа устанавливается лицам, имеющим уровень CD4-лимфоцитов ниже 200 в 1 мкл крови, даже при отсутствии СПИД-индикаторных болезней.

Категория А включает бессимптомных ВИЧ-серопозитивных лиц, лиц с периферической генерализованной лимфаденопатией, а также острой первичной ВИЧ-инфекцией.

Таблица 2.9

## Классификация СПИДа

Уровень CD4 Т-клеток в 1 мкл крови	Клинические категории		
	А — бессимптомная острая (первичная) ВИЧ-инфекция или ПГЛ	В — мани- фестная, но не А и не С	С — СПИД- индикаторные состояния
> 500/мкл	A1	B1	C1
200–400/мкл	A2	B2	C2
< 200/мкл	A3	B3	C3

Примечание: ПГЛ — периферическая генерализованная лимфаденопатия.

Категория В включает различные синдромы, важнейшие из которых — бациллярный ангиоматоз, орофарингеальный кандидоз, рецидивирующий кандидозный вульвовагинит, трудно поддающийся терапии, цервикальная дисплазия, цервикальная карцинома, идиопатическая тромбоцитопеническая пурпура, листериоз, периферическая нейропатия.

Вторичные инфекции, выявляемые у пациентов с ВИЧ-инфекцией, и уровень CD4 Т-клеток в крови приведены в табл. 2.10 [Rich R. R. et al., 2001].

Таблица 2.10

## Вторичные инфекции, выявляемые у пациентов с ВИЧ-инфекцией

Уровень CD4 Т-клеток в 1 мкл крови	Этиологический агент	Клинические проявления
Незначительное снижение	Вирус папилломы человека	Кондиломы
	Вирус <i>Herpes simplex</i>	Возвратные язвы
	Вирус <i>Herpes zoster</i>	Кожные высыпания
	Вирус гепатита В	Персистентная антигенемия
	Вирус гепатита С	Хронический гепатит
	Вирус гепатита D	Хронический гепатит
	<i>Rochalimaea henselae</i>	Бациллярный ангиоматоз
	<i>Encapsulated bacteria</i>	Синуситы
	<i>Candida spp.</i>	Стоматиты, вагиниты
<i>Coccidioides immitis</i>	Пневмония	

Окончание табл. 2.10

Уровень CD4 Т-клеток в 1 мкл крови	Этиологический агент	Клинические проявления
≤ 500	Вирус Эпштейна—Барр Вирус герпеса человека 8 Вирус папилломы человека <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Ротовая волосатоклеточная лейкоплакия, лимфома Саркома Капоши, лимфома Цервикальная или анаоректальная дисплазия Пневмония
≤ 200	<i>Pneumocystis carinii</i> <i>Toxoplasma gondii</i> <i>Cryptosporidia/microsporidia</i> <i>Isospora</i> <i>Encapsulated bacteria</i> <i>Shigella, Salmonella, Campylobacter</i> <i>Treponema Pallidum</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Пневмония, диссеминированная инфекция Энцефалит, хоронидит Гастроэнтерит, диарея  Диарея Пневмония, синусит Дизентерия, бактериемия  Вторичный и нейросифилис Пневмония, диссеминированное заболевание
≤ 100	<i>Virus Herpes simplex</i> <i>Virus Herpes zoster</i> Цитомегаловирус <i>Candida spp.</i> <i>Cryptococcus neoformans</i>  <i>Histoplasma capsulatum</i> <i>Penicillium marneffel</i> <i>Mycobacterium avium-intracellulare</i>	Эзофагит Кожная диссеминация Ретинит, колит, нейропатия Эзофагит Менингит, пневмония, диссеминация Диссеминированное заболевание Диссеминированное заболевание Диссеминированное заболевание

### 2.2.1.2. Антитела к ВИЧ 1–2 в крови

Антитела к ВИЧ 1–2 в сыворотке крови в норме отсутствуют.

Определение антител к ВИЧ является основным методом лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции. В основе метода лежит ИФА (чувствительность более 99,5 %, специфичность более 99,8 %). Антитела к ВИЧ появляются у 90–95 % инфицированных в течение 3 мес. после заражения, у 5–9 % — через 6 мес. и 0,5–1 % — в более поздние сроки [Кожмякин Л. А. и др., 1990]. В стадии СПИДа количество антител может снижаться вплоть до полного исчезно-

нения. При получении положительного ответа выявления антител к ВИЧ во избежание ложноположительных результатов анализ должен быть повторен еще 1 или 2 раза, желательно с использованием диагностикума другой серии. Положительным результатом считается тот, если из двух оба или из трех два анализа отчетливо выявили антитела.

### **2.2.1.3. Иммуноблоттинг на антитела к вирусным белкам ВИЧ в сыворотке крови**

**Антитела к вирусным белкам ВИЧ в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Метод ИФА по определению антител к ВИЧ является скрининговым. При получении положительного результата для подтверждения его специфичности используется метод иммуноблоттинга Western-blot — встречная преципитация в геле антител в сыворотке крови больного с различными вирусными белками, подвергнутыми разделению по молекулярной массе с помощью электрофореза и нанесенными на нитроцеллюлозу. Определяются антитела к вирусным белкам gp41, gp120, gp160, p24, p18, p17 и др.

По рекомендации Российского центра по профилактике и борьбе со СПИДом, обнаружение антител к одному из гликопротеинов — gp41, gp120, gp160 следует считать положительным результатом. В случае обнаружения антител к другим белкам вируса результат считается сомнительным, и такого человека следует обследовать еще дважды — через 3 и 6 мес. Отсутствие антител к специфическим белкам ВИЧ означает, что ИФА дал ложноположительный результат. Вместе с тем в практической работе при оценке результатов метода иммуноблоттинга необходимо руководствоваться инструкцией, прилагаемой фирмой к используемому набору для исследования.

Метод иммуноблоттинга применяется для лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции.

### **2.2.1.4. Антиген p24 в сыворотке крови**

**Антиген p24 в сыворотке крови в норме отсутствует.**

Антиген p24 представляет собой белок стенки нуклеотида ВИЧ. Стадия первичных проявлений после инфицирования ВИЧ является следствием начала репликативного процесса. Антиген p24 по-

является в крови спустя 2 нед. после инфицирования и может быть выявлен методом ИФА в период от 2 до 8 нед. Через 2 мес. от начала инфицирования антиген р24 исчезает из крови. В дальнейшем в клиническом течении ВИЧ-инфекции отмечается второй подъем содержания в крови белка р24. Он приходится на период формирования СПИДа. Существующие тест-системы ИФА для детекции антигена р24 используются для раннего обнаружения ВИЧ у доноров крови и детей, определения прогноза течения СПИДа и контроля за проводимой терапией у этих больных. Метод ИФА обладает высокой аналитической чувствительностью, что позволяет обнаруживать антиген р24 при ВИЧ-1 в сыворотке крови в концентрациях 5–10 пкг/мл и менее 0,5 нг/мл — при ВИЧ-2, и высокой специфичностью. Вместе с тем следует отметить, что уровень антигена р24 в крови подвержен индивидуальным вариациям, а это значит, что только 20–30 % пациентов могут быть выявлены с помощью данного исследования в ранний период после инфицирования [Rose N. R. et al., 1997].

Антитела к антигену р24 классов IgM и IgG появляются в крови начиная со 2-й недели, достигают пика в течение 2–4 нед. и держатся на таком уровне различное время: антитела класса IgM в течение нескольких месяцев, исчезая в течение года после инфицирования, а антитела IgG могут сохраняться годами.

Алгоритм диагностики ВИЧ-инфекции приведен на схеме 2.4, а на рис. 2.2 представлена динамика антител различных классов после ВИЧ-инфицирования.

## 2.2.2. Вирусные гепатиты

В настоящее время выделяют следующие формы вирусных гепатитов: гепатит А, гепатит В, гепатит С, гепатит D и гепатит Е. Для диагностики каждой из перечисленных форм вирусных гепатитов используется определенный перечень маркеров.

### 2.2.2.1. Вирусный гепатит А

Гепатит А (Hepatitis A) — острая энтеровирусная инфекция. Возбудитель — вирус гепатита А (ВГА, HAV) — энтеровирус типа 72. Геном вируса представлен однонитчатой РНК. ВГА содержит единственный антиген — HA-Ag. Удельный вес гепатита А в суммарной



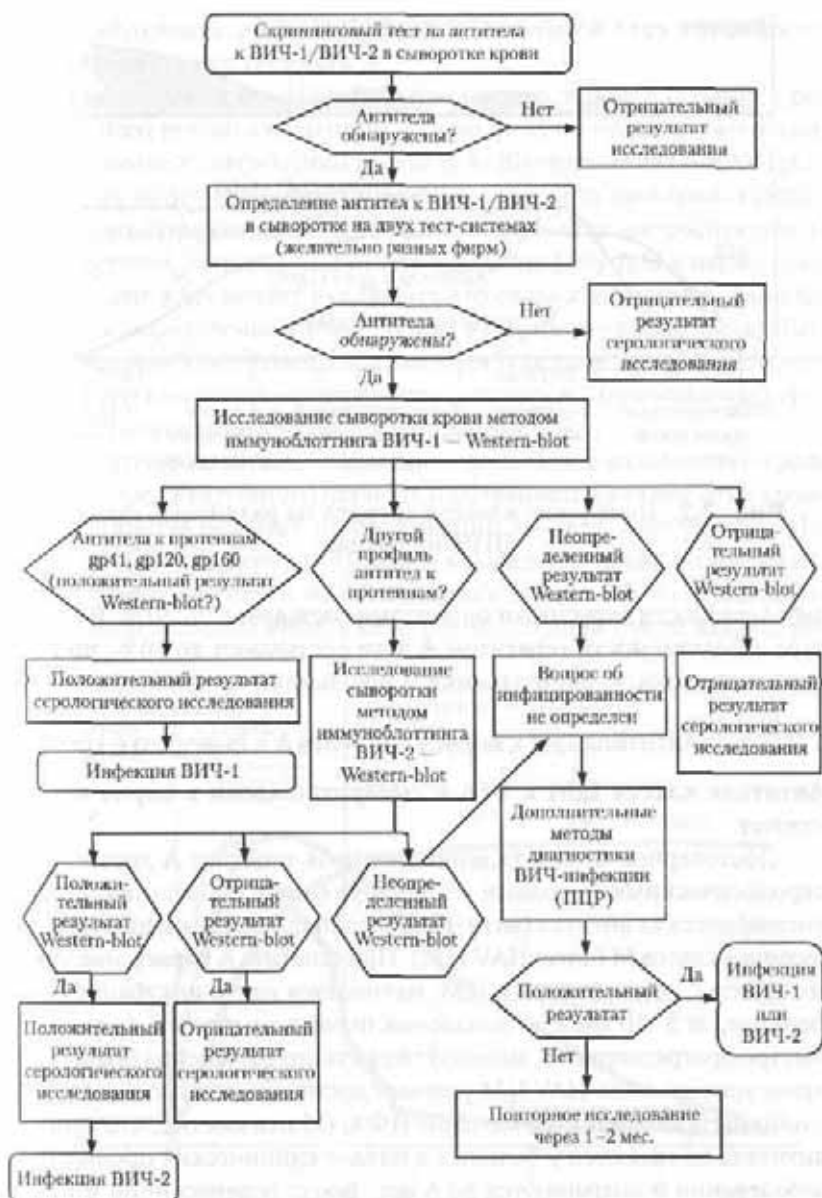
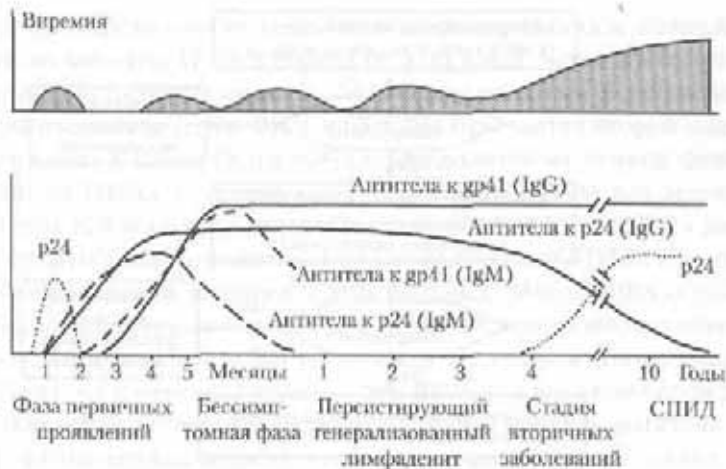


Схема 2.4. Алгоритм диагностики ВИЧ-инфекции



**Рис. 2.2.** Появление классов антител на различных стадиях ВИЧ-инфекции

заболеваемости вирусными гепатитами составляет 70–80%. В структуре заболеваемости гепатитом А дети составляют до 80%, причем основная масса — дошкольники и школьники начальных классов.

#### 2.2.2.1.1. Антитела IgM к вирусу гепатита А в сыворотке крови

**Антитела класса IgM к ВГА в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Достоверное подтверждение диагноза гепатита А достигается серологическими методами — обнаружением нарастания уровня специфических антител (анти-HAV), принадлежащих к иммуноглобулинам класса М (анти-HAV IgM). При гепатите А нарастание уровня антител, относящихся к IgM, начинается еще в инкубационном периоде, за 5–10 дней до появления первых симптомов болезни, и быстро прогрессирует. К моменту первичного обращения больного к врачу уровень анти-HAV IgM успевает достичь высоких показателей, чтобы быть выявленным методом ИФА. Общеизвестно, что данные антитела появляются у больных в начале клинических проявлений заболевания и сохраняются до 6 мес. после перенесенной инфекции. Спустя год после перенесенной инфекции анти-HAV IgM в крови не обнаруживаются.

### Определение анти-HAV IgM — основной тест специфической диагностики гепатита А.

Наращение анти-HAV IgG происходит в более поздние сроки — в фазу реконвалесценции — и поэтому не может служить критерием ранней диагностики гепатита А. Выявление анти-HAV IgG у здоровых людей (возможно у 30–60 % здорового населения) свидетельствует о предыдущей инфекции и иммунитете (ретроспективная диагностика). Вместе с тем отсутствие анти-HAV IgG в период разгара гепатита позволяет исключить его связь с вирусом А. Количественное определение анти-HAV IgG в сыворотке крови может быть использовано для оценки динамики поствакцинального иммунного ответа при вакцинировании против гепатита А. Динамика маркеров вирусного гепатита А представлена на рис. 2.3.

Антиген гепатита А — HA-Ag — появляется в сыворотке крови в конце преджелтушного периода и сохраняется в сыворотке крови у большинства больных на протяжении 1–2 нед. заболевания. Из-за кратковременности пребывания в сыворотке крови больного для диагностических целей не используется. В кале HA-Ag может быть обнаружен методом ИФА уже через 10–20 дней после инфициро-

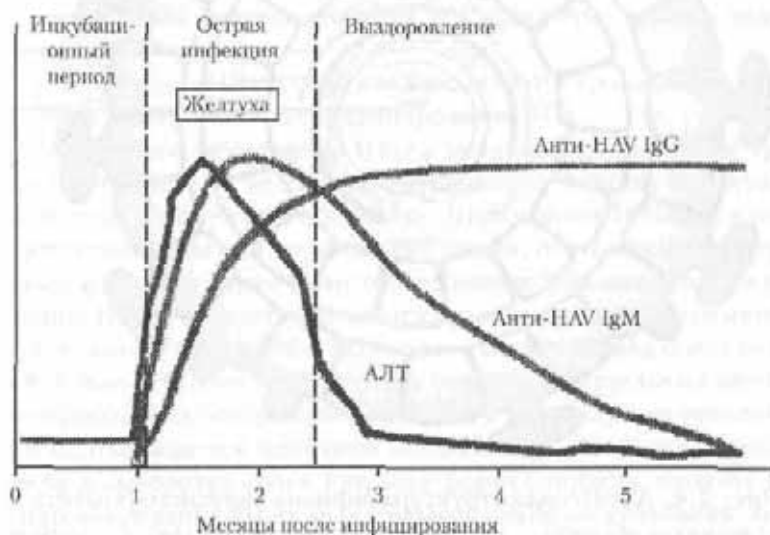
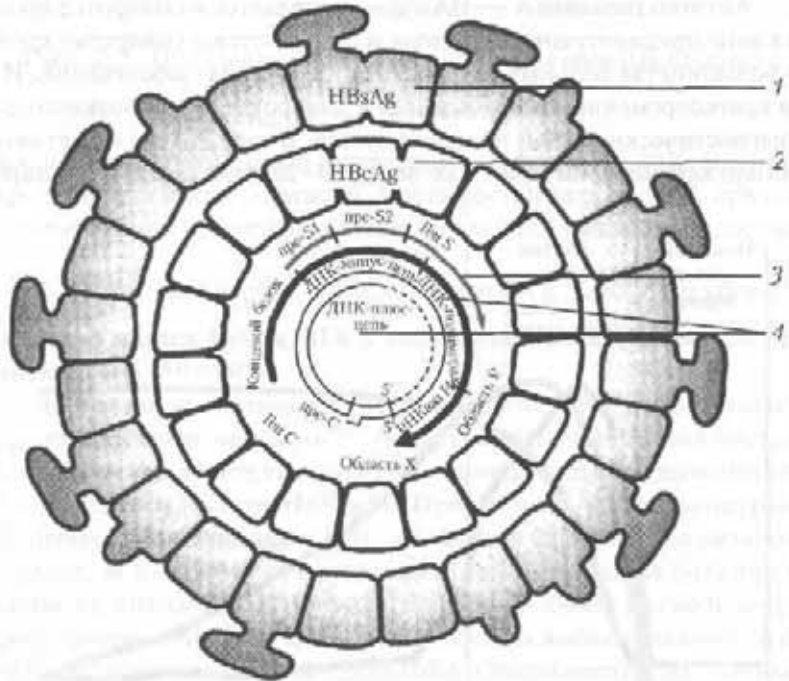


Рис. 2.3. Динамика маркеров вирусного гепатита А

вания. Однако в самом начале периода разгара гепатита А антиген вируса обнаруживается только у 20–50 % пациентов [Карпищенко А. И., 1997].

#### 2.2.2.2. Вирусный гепатит В

Гепатит В — вирусная антропонозная инфекция. Возбудитель — вирус гепатита В (ВГВ, HBV) — относится к семейству гепаднавирусов, ДНК-содержащих вирусов, поражающих клетки печени. Вирионы ВГВ имеют наружную липопротеидную оболочку и нуклеокапсид, содержащий двунитчатую циркулярную ДНК и ДНК-зависимую ДНК-полимеразу. На рис. 2.4 представлена антигенная структура вириона и маркеры вирусного гепатита В.



**Рис. 2.4.** Антигенная структура вириона вирусного гепатита В:  
 1 — наружная оболочка — поверхностный антиген (HBsAg); 2 — антиген е (HBcAg) — кобовский или ядерный антиген; 3 — антиген е (HBeAg); 4 — ДНК-полимераза, ДНК вируса гепатита В

В структуре ВГВ выделяют следующие антигенные системы:

- поверхностный (австралийский) антиген HBsAg, находящийся в составе липопротеидной оболочки ВГВ, является маркером ВГВ, указывая на инфицированность вирусом;
- ядерный (core) антиген HBcAg — обнаруживается в составе нуклеокапсида вирионов, свидетельствует об активной репродукции вируса;
- HBeAg — входит в состав ядра ВГВ, указывая на активность вируса и, кроме того, на его высокую вирулентность и инфекционность;
- HBxAg — расположен вблизи оболочки вириона, его роль в генезе инфекции изучается.

В диагностике вирусного гепатита В ведущее значение имеет определение комплекса маркеров гепатита. Свыше 5 % населения планеты охвачено этой инфекцией, а частота безжелтушных форм вирусного гепатита В составляет, по данным разных авторов, от 60 до 82 %.

#### 2.2.2.2.1. Поверхностный антиген (HBsAg) гепатита В в сыворотке крови

**Поверхностный антиген гепатита В в сыворотке крови в норме отсутствует.**

Обнаружение HBsAg гепатита В в сыворотке крови подтверждает острое или хроническое инфицирование ВГВ.

При остром заболевании HBsAg выявляется в сыворотке крови в последние 1–2 недели инкубационного периода и в первые 2–3 недели клинического периода. Циркуляция HBsAg в крови может ограничиваться несколькими днями, поэтому следует стремиться к раннему первичному обследованию больных. Частота выявления HBsAg зависит от чувствительности используемого метода исследования. Метод ИФА позволяет выявить HBsAg более чем у 90 % больных. Почти у 5 % больных самые чувствительные методы исследования не обнаруживают HBsAg, в таких случаях этиология ВГВ подтверждается наличием анти-HBcAg IgM. Концентрация HBsAg в сыворотке крови при всех формах тяжести гепатита В в разгар заболевания имеет значительный диапазон колебаний, вместе с тем имеется определенная закономерность: в остром периоде существует обратная связь между концентрацией HBsAg в сыво-

ротке крови и тяжестью болезни. Высокая концентрация HBsAg чаще наблюдается при легких и среднетяжелых формах болезни. При тяжелых и злокачественных формах концентрация HBsAg в крови чаще низкая, причем у 20 % больных с тяжелой формой и 30 % со злокачественной антиген в крови может вообще не обнаруживаться. Появление на этом фоне у больных антител к HBsAg расценивается как неблагоприятный прогностический признак; он определяется при злокачественных формах (фульминантных) гепатита В.

При остром течении гепатита В концентрация HBsAg в крови постепенно снижается вплоть до полного исчезновения этого антигена. HBsAg исчезает у большинства больных в течение 3 мес. от начала острой инфекции. Снижение концентрации HBsAg более чем на 50 % к концу 3-й недели острого периода как правило свидетельствует о близком завершении инфекционного процесса. Обычно у больных с высокой концентрацией HBsAg в разгар болезни он обнаруживается в крови в течение нескольких месяцев, а у больных с низкой концентрацией — исчезает значительно раньше (иногда через несколько дней после начала заболевания). В целом срок обнаружения HBsAg колеблется от нескольких дней до 4—5 мес. Максимальный срок обнаружения данного антигена при гладком течении острого гепатита В не превышает 6 мес. от начала заболевания.

HBsAg может быть обнаружен у практически здоровых людей, как правило, при профилактических или случайных исследованиях. В таких случаях исследуют другие маркеры вирусного гепатита В — анти-HBcAg IgM, анти-HBc IgG, анти-HBeAg — и изучают функцию печени. При отрицательных результатах необходимы повторные исследования на HBsAg. Если повторные исследования крови в течение более 3 мес. выявляют HBsAg, такого человека относят к хроническому носителю поверхностного антигена. Носительство HBsAg — довольно распространенное явление. В мире насчитывается более 300 млн носителей, у нас в стране — около 10 млн [Соринсон С. Н., 1987]. Прекращение циркуляции HBsAg с последующей сероконверсией всегда свидетельствует о санации организма.

**Исследование крови на наличие HBsAg применяется в следующих целях:**

- для диагностики острого гепатита В:
  - инкубационный период,
  - острый период заболевания,
  - ранняя стадия реконвалесценции;
- для диагностики хронического носительства ВГВ;
- при заболеваниях:
  - персистирующий хронический гепатит,
  - цирроз печени;
- для скрининга, выявления больных в группах риска:
  - больные с частыми гемотрансфузиями,
  - больные с хронической почечной недостаточностью,
  - больные с множественным гемодиализом,
  - больные с иммунодефицитными состояниями, в том числе СПИДом.

#### 2.2.2.2.2. Антитела к HBsAg гепатита В в сыворотке крови

**Анти-HBsAg в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Антитела к поверхностному антигену гепатита В — анти-HBsAg — обнаруживаются в конце острого ВГВ или, чаще всего, через 3 мес. от начала инфекции, изредка — позже (до года) и сохраняются долго (в среднем 5 лет) [Хазанов А. И., 1988]. Анти-HBsAg обнаруживаются не сразу после исчезновения HBsAg. Продолжительность фазы «окна» варьирует от нескольких недель до нескольких месяцев. Антитела к поверхностному антигену гепатита В нейтрализуют вирус и рассматриваются как признак иммунитета. Они относятся к классу IgG. Определение анти-HBsAg имеет важное значение для оценки течения гепатита В и его исходов, так как характеризует иммунный ответ конкретного больного. Это надежный критерий развития постинфекционного иммунитета и выздоровления. Выявление анти-HBsAg может служить критерием ретроспективной диагностики гепатита ранее не уточненной этиологии. **Анти-HBsAg свидетельствуют о ранее перенесенной инфекции.**

Выявление антител к HBsAg играет важную роль в определении контингента для вакцинации против гепатита В. Согласно рекомендациям ВОЗ, если уровень анти-HBsAg составляет менее 10 мМЕ/л, то таким лицам показана вакцинация против гепатита В, при уровне 10–100 мМЕ/л вакцинация должна быть отложена на год, при уровне более 100 мМЕ/л вакцинация показана через 5–7 лет.

**Исследование крови на наличие антител к HBsAg применяется в следующих целях:**

- диагностика ВГВ в позднюю стадию реконвалесценции;
- ретроспективная диагностика перенесенного вирусного гепатита В;
- диагностика анти-HBs-положительного хронического гепатита;
- диагностика персистирующего хронического гепатита;
- оценка напряженности иммунитета после вакцинации против гепатита В.

**2.2.2.2.3. Общие антитела к ядерному антигену гепатита В в сыворотке крови**

**Анти-HBcAg в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

HBcAg обнаруживается только в ядрах гепатоцитов. В крови в свободном виде HBcAg не выявляется. Ядерное расположение HBcAg, близкое к ядру вируса, определяет его высокую иммуногенность. Антитела к ядерному антигену гепатита В появляются первыми среди других антител, связанных с гепатитом В, в сыворотке крови больных острым и хроническим ВГВ, а также у реконвалесцентов. Общие антитела к ядерному антигену гепатита В состоят из иммуноглобулинов класса М и G. Их определение может использоваться только для ретроспективной диагностики гепатита В, так как у 5–10% больных исследования на HBsAg дают отрицательный результат. Для того чтобы установить, в какой стадии развития находится гепатит В, необходимо дополнительное определение антител IgM. Антитела класса IgM — маркер активной репликации вируса, т. е. острой инфекции, а антитела класса IgG — перенесенной инфекции.

**2.2.2.2.4. Антитела IgM к ядерному антигену гепатита В в сыворотке крови**

**Анти-HBcAg IgM в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Анти-HBcAg IgM обнаруживаются уже в начале острой фазы болезни, еще до появления или в первые дни желтухи, иногда даже в конце инкубации. Выявление анти-HBcAg IgM является убедительным критерием диагностики гепатита В, особенно при отрицательных результатах исследования на HBsAg. Анти-HBcAg IgM циркулируют в крови больных в течение нескольких месяцев (2–5 мес.) до



периода реконвалесценции, а затем исчезают, что рассматривается как признак очищения организма от ВГВ.

**Исследование крови на наличие анти-НВсАg IgM применяется в следующих целях:**

- диагностика острого периода гепатита В;
- диагностика периода реконвалесценции гепатита В;
- диагностика анти-НВс-положительного хронического гепатита;
- диагностика хронического носительства ВГВ.

2.2.2.2.5. Антитела IgG к ядерному антигену гепатита В в сыворотке крови

**Анти-НВсАg IgG в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

У больных анти-НВсАg IgG появляются в острый период ВГВ и сохраняются на протяжении всей жизни. Анти-НВсАg IgG — ведущий маркер перенесенного гепатита В.

**Исследование крови на наличие анти-НВсАg IgG применяется в следующих целях:**

- диагностика хронического носительства ВГВ при наличии НВс-антигена в сыворотке крови;
- диагностика перенесенного ВГВ.

2.2.2.2.6. НВсАg гепатита В в сыворотке крови

**В норме НВсАg в сыворотке крови отсутствует.**

НВсАg можно обнаружить в сыворотке крови большинства больных острым ВГВ. Он обычно исчезает из крови раньше НВс-антигена. Высокий уровень НВсАg в первые недели заболевания или обнаружение его на протяжении более 8 нед. дает основание заподозрить хроническую инфекцию. Этот антиген часто обнаруживается при хроническом активном гепатите вирусной этиологии. Особый интерес к определению НВсАg связан с тем, что его обнаружение характеризует активную репликативную фазу инфекционного процесса. Установлено, что высокие концентрации НВсАg соответствуют высокой ДНК-полимеразной активности и характеризуют активную репликацию вируса. Наличие НВсАg в крови свидетельствует о высокой ее инфекциозности, т. е. присутствии в организме обследуемого активной инфекции гепатита В, и обнаруживается только в случае наличия в крови НВс-антигена. У больных хроническим активным

гепатитом противовирусные препараты применяются только при обнаружении в крови HBeAg.

**Наличие HBe-антигена свидетельствует о продолжающейся репликации вируса и инфекционности больного.** HBeAg антиген — маркер острой фазы и репликации вируса гепатита В.

**Исследование крови на наличие HBe-антигена применяется в следующих целях:**

- диагностика инкубационного периода ВГВ;
- диагностика продромального периода ВГВ;
- диагностика острого периода ВГВ;
- диагностика хронического персистирующего ВГВ.

#### 2.2.2.2.7. Антитела к HBeAg гепатита В в сыворотке крови

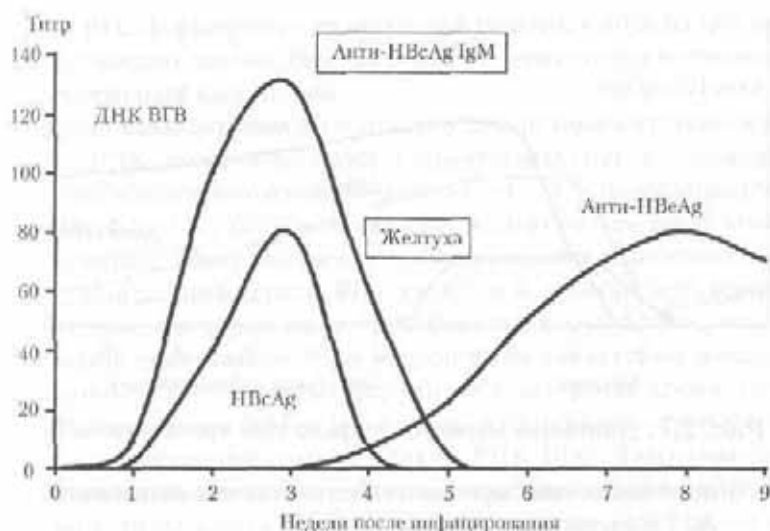
**Анти-HBeAg в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Появление анти-HBeAg указывает обычно на интенсивное выведение из организма вируса гепатита В и незначительное инфицирование больного. Эти антитела появляются в острый период и сохраняются до 5 лет после перенесенной инфекции. При хроническом персистирующем гепатите анти-HBeAg обнаруживаются в крови больного вместе с HBsAg. Сероконверсия, т. е. переход HBeAg в анти-HBeAg, при хроническом активном гепатите чаще прогностически благоприятна, но такая же сероконверсия при выраженной цирротической трансформации печени прогноза не улучшает.

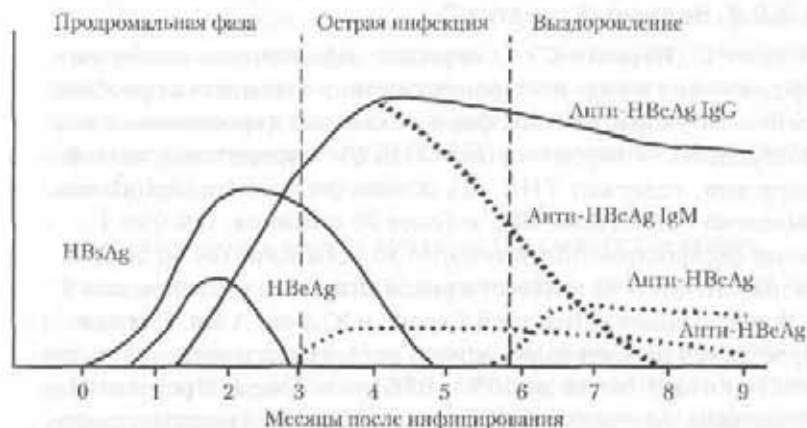
**Исследование крови на наличие анти-HBeAg применяется в следующих целях:**

- диагностика ВГВ:
  - начальная стадия заболевания,
  - острый период инфекции,
  - ранняя стадия реконвалесценции,
  - реконвалесценция,
  - поздняя стадия реконвалесценции;
- диагностика перенесенного ВГВ в недалеком прошлом;
- диагностика хронического персистирующего ВГВ.

Подробная динамика основных маркеров ВГВ в первые недели после инфицирования представлена на рис. 2.5, а на рис. 2.6 и 2.7 приведены изменения уровня маркеров в крови при острой и хронической инфекции гепатита В на протяжении более длительного периода времени.



**Рис. 2.5.** Динамика маркеров ВГВ в первые недели после инфицирования



**Рис. 2.6.** Динамика маркеров в крови при остром ВГВ

Критериями наличия хронического ВГВ являются [Lok A., McMahon B. J., 2001]:

- 1) обнаружение НВсАг в крови в течение более 6 мес.;
- 2) постоянное или периодическое выявление ДНК ВГВ в крови;

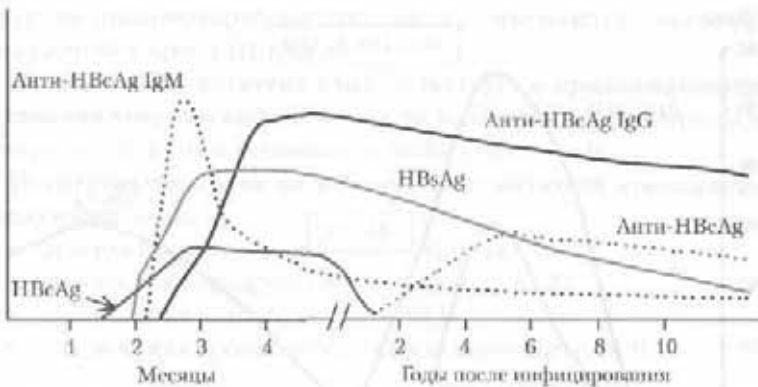


Рис. 2.7. Динамика маркеров в крови при хроническом ВГВ

- 3) постоянное или периодическое повышение активности АЛТ/АСТ в крови;
- 4) морфологические признаки хронического гепатита при гистологическом исследовании биоптата печени.

### 2.2.2.3. Вирусный гепатит С

Гепатит С (Hepatitis C) — вирусное заболевание, наиболее часто протекающее в виде посттрансфузионного гепатита с преобладанием безжелтушных и легких форм и склонное к хронизации процесса. Возбудитель — вирус гепатита С (ВГС) — имеет сходство с флавовирусами, содержит РНК. На основе филогенетического анализа выделено 6 генотипов ВГС и более 80 субтипов. Генотип 1 — наиболее распространенный генотип во всем мире (от 40 до 80 % изолятов). Генотип 1a является преобладающим субтипом для США, а 1b преобладает в Западной Европе и Южной Азии. Генотип 2 распространен во всем мире, однако встречается с меньшей частотой, чем генотип 1 (от 10 до 40 %). ВГС типа 3 характерен для Индии, Пакистана, Австралии и Шотландии. Генотип 4 распространен преимущественно в Средней Азии и Египте, генотип 5 — в Южной Африке, а генотип 6 — в Гонконге и Макао.

Примерно 90 % всех случаев посттрансфузионных гепатитов связано с ВГС. Среди доноров антитела к вирусу гепатита С (анти-ВГС) обнаруживают в 0,2–5 % случаев. У 40–75 % пациентов регистрируется бессимптомная форма болезни, у 50–75 % больных

острым ВГС формируется хронический гепатит, у 20 % из них развивается цирроз печени. Важная роль ВГС отводится и в этиологии гепатоцеллюлярной карциномы.

Геном ВГС представлен одноцепочечной положительно заряженной РНК, которая кодирует 3 структурных (нуклеокапсидный белок core и нуклеопротеины оболочки  $E_1-E_2$ ) и 5 структурных ( $NS_1, NS_2, NS_3, NS_4, NS_5$ ) белков. К каждому из этих белков вырабатываются антитела, обнаруживаемые в крови больных гепатитом С.

Отличительной чертой ВГС является волнообразное течение заболевания, в котором разграничивают три фазы: острая, латентная и фаза реактивации. Для острой фазы характерно повышение активности печеночных ферментов в сыворотке крови, уровня антител классов IgM и IgG (к нуклеокапсидному белку core) к ВГС с нарастанием титров, а также РНК ВГС. Латентная фаза характеризуется отсутствием клинических проявлений, наличием в крови антител класса IgG (к нуклеокапсидному белку core и неструктурным белкам  $NS_3-NS_5$ ) к ВГС в высоких титрах, отсутствием антител класса IgM и РНК ВГС либо их присутствием в низких концентрациях на фоне незначительного повышения активности печеночных ферментов в периоды обострения. Для фазы реактивации характерны появление клинических признаков, повышение активности печеночных ферментов, наличие антител класса IgG (к нуклеокапсидному белку core и неструктурным белкам NS) в высоких титрах, присутствие РНК ВГС и нарастание титров антител класса IgM к ВГС в динамике.

#### 2.2.2.3.1. Антитела к вирусу гепатита С в сыворотке крови

**Антитела к вирусу гепатита С в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Диагностика гепатита С основана на обнаружении суммарных антител к ВГС методом ИФА, которые появляются в первые 2 недели заболевания и свидетельствуют о возможной инфицированности вирусом или перенесенной инфекции. Анти-ВГС могут сохраняться в крови реконвалесцентов на протяжении 8–10 лет с постепенным снижением их концентрации. Возможно позднее обнаружение антител спустя год и более после инфицирования. При хроническом гепатите С антитела определяются постоянно и в более высоких титрах. Большинство используемых в настоящее

время тест-систем для диагностики ВГС основано на определении антител класса IgG. Тест-системы, способные определять антитела класса IgM, позволяют верифицировать активную инфекцию. Антитела класса IgM могут выявляться не только при остром ВГС, но и при хроническом гепатите С. Снижение их уровня в процессе лечения больных хроническим гепатитом С может свидетельствовать об эффективности лекарственной терапии. В острую фазу инфекции коэффициент антитела IgM/IgG находится в пределах 3–4 усл. ед. (преобладание антител IgM свидетельствует о высокой активности процесса). По мере выздоровления этот коэффициент снижается в 1,5–2 раза, свидетельствуя о минимальной репликативной активности.

Обнаружение суммарных антител IgG к ВГС методом ИФА недостаточно для постановки диагноза ВГС и требует подтверждения способом иммуноблоттинга для исключения ложноположительного результата исследования. Необходимо полное обследование пациента на антитела класса IgG к различным белкам ВГС (к белку core и белкам NS) и антитела класса IgM к ВГС в динамике. Результаты серологических исследований совместно с клинико-эпидемиологическими данными позволяют установить диагноз и определить стадию заболевания, что важно для правильного выбора метода лечения.

#### 2.2.2.3.2. Иммуноблоттинг на антитела к белкам вируса гепатита С в сыворотке крови

**Антитела к вирусу гепатита С в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Метод ИФА, применяемый для определения антител к ВГС, является скрининговым. В случае получения положительного результата для подтверждения его специфичности используют метод иммуноблоттинга Western-blot — встречную преципитацию в геле антител в сыворотке крови больного с различными вирусными белками, подвергнутыми разделению по молекулярной массе с помощью электрофореза и нанесенными на нитроцеллюлозу. Исследование считается положительным, если выявляются антитела к двум или более белкам ВГС интенсивностью +1. Специфичными для ВГС являются антитела к белкам — core, NS<sub>1</sub>, NS<sub>2</sub>, NS<sub>3</sub>, NS<sub>4</sub>, NS<sub>5</sub>.

Иммуноблоттинг на вирус гепатита С служит подтверждающим тестом специфичности метода ИФА.

Динамика маркеров ВГС представлена на рис. 2.8.

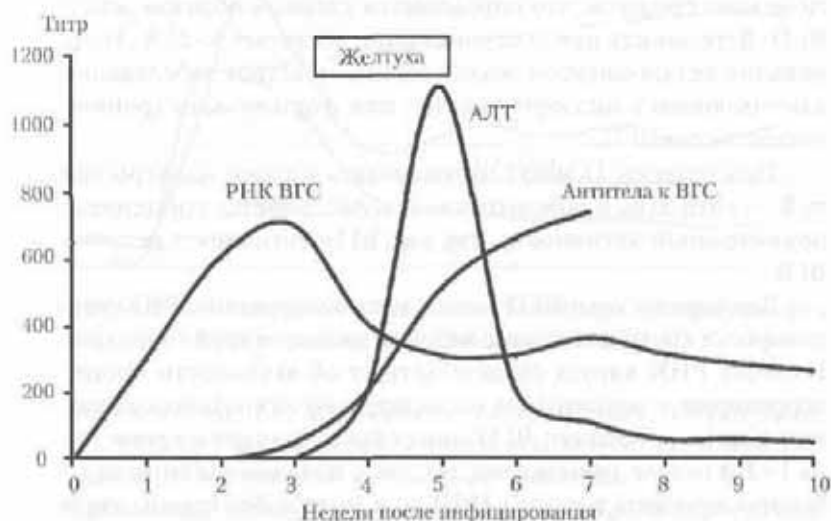


Рис. 2.8. Динамика маркеров ВГС

У пациентов с хроническим ВГС для определения стратегии лечения, помимо установления этиологического диагноза серологическими методами, необходимо определить генотип ВГС и вирусную нагрузку (уровень вирусных частиц в 1 мл крови). Для этих целей используется метод ПЦР (см. разд. 2.8 «Полимеразная цепная реакция в диагностике инфекционных заболеваний»).

#### 2.2.2.4. Вирусный гепатит D

Гепатит D — вирусная инфекция, вследствие биологических особенностей вируса протекающая исключительно в виде ко- или суперинфекции при гепатите В, характеризующаяся тяжелым течением, часто с неблагоприятным исходом.

Возбудитель — вирус гепатита D (ВГD) по своим биологическим свойствам приближается к вироидам — обнаженным молекулам нуклеиновых кислот. Печень человека — единственное место репликации ВГD. Известно существование двух вариантов инфек-

зии: коинфекция (одновременное заражение ВГВ и ВГД) и суперинфекция (заражение HBsAg-положительных пациентов). Сочетание ВГВ и ВГД сопровождается развитием более тяжелых форм патологического процесса, что определяется главным образом действием ВГД. Летальность при суперинфекции достигает 5–20%. Инфицирование дельта-вирусом может вызывать острое заболевание, заканчивающееся выздоровлением, или формировать хроническое носительство ВГД.

При гепатите D могут отсутствовать в крови маркеры гепатита В — анти-HBc и HBs-антиген — и наблюдается угнетение ДНК-полимеразной активности, так как ВГД ингибирует репликацию ВГВ.

Для диагностики ВГД используют обнаружение РНК-вируса в сыворотке крови или плазме методом молекулярной гибридизации. Наличие РНК-вируса свидетельствует об активности процесса и коррелирует с максимумом воспалительно-некротических изменений в печени. Антиген ВГД может быть выявлен в крови (только на 1–2-й неделе заболевания, так как с появлением антител к нему быстро исчезает) методом ИФА или иммуноблоттинга, что будет указывать на фазу активной репликации вируса в ткани печени.

#### 2.2.2.4.1. Антитела IgM к вирусу гепатита D в сыворотке крови

**Антитела IgM к вирусу гепатита D в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Антитела ВГД IgM (анти-ВГД IgM) появляются в острый период «дельта-инфекции» (со 2-й недели). По мере выздоровления при ВГД происходит элиминация вируса из печени и исчезновение анти-ВГД IgM (через 2 мес. с начала периода разгара). При хронизации процесса наблюдается персистенция ВГД в ткани печени и анти-ВГД IgM в высокой концентрации в крови. **Антитела ВГД IgM говорят об активной репликации вируса.**

#### 2.2.2.4.2. Антитела IgG к вирусу гепатита D в сыворотке крови

**Антитела IgG к вирусу гепатита D в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Антитела ВГД IgG (анти-ВГД IgG) появляются в период реконвалесценции (3–8 нед. от начала заболевания), и их концентрация постепенно снижается в течение нескольких месяцев (могут обнару-



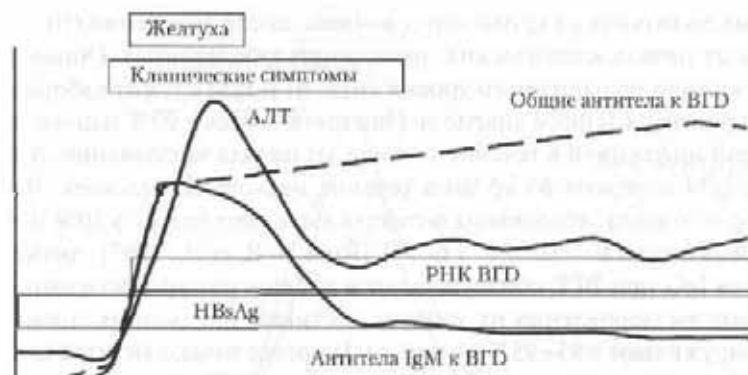


Рис. 2.9. Типичные изменения показателей при суперинфекции ВГД у пациентов с хроническим ВГВ

живаться в течение 1–2 лет в низких концентрациях). Определение антител ВГД IgG может служить критерием ретроспективной диагностики гепатита ранее не уточненной этиологии.

**Применение метода определения антител IgG к вирусу гепатита D:**

- диагностика острого ВГД — период реконвалесценции;
- диагностика хронического персистирующего гепатита;
- диагностика хронического носительства.

Типичные изменения показателей при суперинфекции ВГД у пациентов с хроническим ВГВ представлены на рис. 2.9.

#### 2.2.2.5. Вирусный гепатит E

Возбудителем вирусного гепатита E (ВГЕ) является РНК-вирус. Для заболевания характерен фекально-оральный путь передачи, преимущественно водный. Инкубационный период болезни — около 35 сут. Клиническое течение острого ВГЕ похоже на ВГА. Существенно тяжелее заболевание протекает у беременных, особенно в III триместре. РНК вируса гепатита E появляется в крови через 2–3 нед. после заражения. Виремия свидетельствует о факте заражения и длится в среднем в течение 3 мес., а в ряде случаев — до 6 мес.

Для специфической диагностики ВГЕ используют метод ИФА, основанный на выявлении антител класса IgM (анти-ВГЕ IgM), ко-

торые появляются в крови через 3–4 нед. после заражения (10–12-й день от начала клинических проявлений заболевания). Обнаружение в крови повышенного уровня анти-ВГЕ IgM служит лабораторным подтверждением диагноза. Они выявляются у 90 % пациентов с острой инфекцией в течение 1–4 нед. от начала заболевания. Анти-ВГЕ IgM исчезают из крови в течение нескольких месяцев. Через 3 мес. от начала заболевания антитела выявляют только у 50 % пациентов, а спустя 6–7 мес. — у 6–7 % [Rose N. R. et al., 1997]. Антитела класса IgG при ВГЕ обнаруживают в крови в разгар заболевания, в период выздоровления их уровень достигает наивысших значений (обнаруживают у 93–95 % больных). Наличие только антител класса IgG не является подтверждением диагноза ВГЕ. Для подтверждения положительного результата определения антител классов IgM и IgG используют метод иммуноблоттинга Western-blot — встречную преципитацию в геле антител в сыворотке крови больного с антигенами ВГЕ, подвергнутыми разделению по молекулярной массе с помощью электрофореза и нанесенными на нитроцеллюлозу. Исследование считается положительным, если выявляются антитела к N- и C-терминальной части, средней части капсидного антигена или антигена открытой рамки 3 для считывания ВГЕ.

При ВГЕ в ранние стадии заболевания вирусная РНК методом ПЦР может быть выявлена у 75 % больных в сыворотке крови [Иванова В. В., 2002]. Нередко РНК обнаруживают даже в инкубационный период инфекции.

Динамика маркеров ВГЕ представлена на рис. 2.10.

#### 2.2.2.6. Вирусный гепатит G

В настоящее время вирусный гепатит G (ВГГ) является официально признанным инфекционным заболеванием с парентеральным механизмом заражения (в основном, при гемотрансфузиях). Вирус гепатита G относится к семейству *Flaviviridae*. Геном вируса представлен одноцепочечной РНК. В настоящее время предполагается наличие не менее трех генотипов и нескольких субтипов ВГГ, которые распределены в соответствии с их географическим происхождением. Вирус содержит липидную оболочку, которая служит препятствием для образования иммунных комплексов антиген–антитело во время персистенции вируса в организме человека. В России ВГГ встречается у 3–11 % среди доноров крови, у

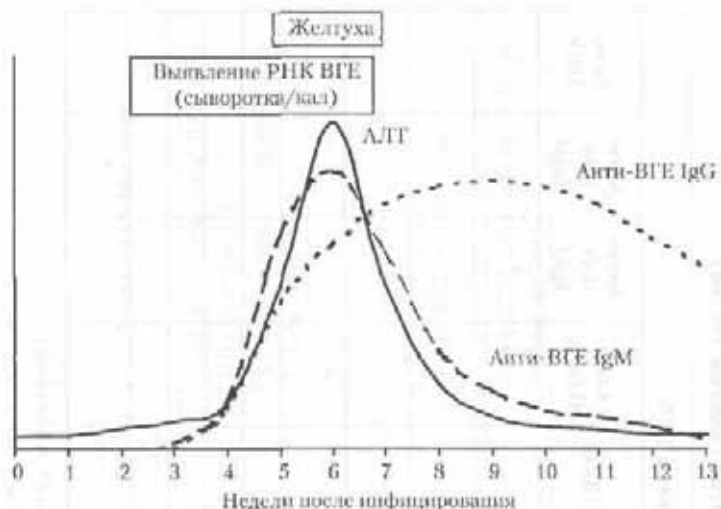


Рис. 2.10. Динамика маркеров ВГЕ

16–24 % — среди больных ВГС. Клинические проявления заболевания по сравнению с другими формами вирусных гепатитов менее выражены. Только у 30–50 % инфицированных ВГГ отмечается повышение активности трансаминаз в сыворотке крови. Дискутируется вопрос о роли ВГГ в развитии апластической анемии, идиопатической тромбоцитопенической пурпуры, талассемии и поздней кожной порфирии.

Основным лабораторным маркером ВГГ служит обнаружение в крови РНК вируса методом ПЦР. Для ретроспективной диагностики ВГГ можно использовать выявление специфических антител класса IgG к белку оболочки E2 ВГГ в сыворотке крови.

Клиническое применение маркеров для диагностики вирусных гепатитов, проведения дифференциальной диагностики между различными формами гепатитов, оценки стадии течения вирусных гепатитов суммированы в табл. 2.11–2.14, а на схеме 2.5 приведен алгоритм диагностики вирусного гепатита.

**Периоды обнаружения в крови маркеров ВГВ при остром процессе:**

- 1) **поверхностный HBs-антиген** — с инкубационного периода до периода ранней реконвалесценции (5,5–6 мес.);

Клиническое применение маркеров гепатитов (наборы тестов)

Интерпретация результатов	Маркеры ВГВ								
	HBsAg	Анти- HBcAg IgM	Анти- HBcAg	Анти- HBsAg	HBeAg	Анти- HBcAg	Анти- HAV IgM	Анти- HAV Total	Анти- HCV
Дифференциальная диагностика острого гепатита	+	+					+		+
Мониторинг больных острым гепатитом В	+	+	+	+	+	+			
Диагностика носительства ВГВ	+		+		+	+			
Мониторинг хронического гепатита В	+				+	+			
Обследование доноров крови	+								
Мониторинг вакцинации				+				+	+
Дородовой скрининг	+				+				+
Послеродовой мониторинг	+			+					+
Эпидемиологический скрининг	+		+	+				+	+

Таблица 2.12

Дифференциальная диагностика острых вирусных гепатитов  
(использование рекомендуемого набора маркеров)

Интерпретация результатов исследования	HBsAg	Анти- HAV IgM	Анти- HCV	Анти- HBcAg IgM	Дополнительные маркеры
Ранний острый или хронический гепатит В	+				Анти-ВГД, HBe, анти-HBe, анти-HBcAg, анти-HBs
Острый гепатит В. Носительство ВГВ	+			+	Анти-ВГД, HBe, анти-HBe, анти-HBcAg, анти-HBs
Острый или хронический гепатит С			+		
Ранняя фаза острого гепатита А		+			
Острый или перенесенный гепатит В				+	Анти-HBs
Хронический гепатит В и острый или хронический гепатит С	+		+		Анти-ВГД, анти-HBcAg
Острый или перенесенный гепатит В и острый или хронический гепатит С			+	+	Анти-ВГД, анти-HBcAg, АЛТ, повторно анти-HCV

Таблица 2.13

## Клиническое значение маркеров гепатитов (при обнаружении их в крови)

Интерпретация результатов	Маркеры ВГВ								
	HBsAg	Анти- HBcAg IgM	Анти- HBcAg	Анти- HBsAg	HBeAg	Анти- HBcAg	Анти- HAV IgM	Анти- HAV total	Анти- HCV
Ранняя фаза острого гепатита В	+				+				
Острая инфекция гепатита В	+	+	+		+	+			
Ранняя стадия реконвалесценции	+	+	+			+			
Хронический гепатит В без сероконверсии	+		+		+				
Хронический гепатит В с сероконверсией	+		+			+			
Стадия реконвалесценции гепатита В		+	+	+		+			
Поздняя стадия реконвалесценции гепатита В		+	+	+		+			
Перенесенный ВГВ			+	+		+			
Состояние после вакцинации вакцинной ВГВ				+					
Ранняя фаза острого гепатита А							+		
Период реконвалесценции гепатита А							+	+	
Состояние после вакцинации вакцинной гепатита А								+	
ВГС									+

Таблица 2.14

## Оценка стадий течения ВГВ (при выявлении HBsAg)

Интерпретация результатов	Маркеры ВГВ						
	HBsAg	HBeAg	Анти- HBeAg	Анти- HBsAg	Анти- HBcAg IgM	Анти- HBcAg IgG	АЛТ/АСТ
Редкий вариант носительства	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	В норме
Инкубационный период. Начальная стадия заболевания	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	В норме или (+)
Продромальный период. Хроническая инфекция	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	В норме или (+)
Острый период вирусного гепатита. Хроническая инфекция	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	Повышены
Ранняя стадия реконвалесценции. Хроническое носительство	(+)	(-)	(+)	(-)	(+/-)	(+)	В норме
Реконвалесценция	(-)	(-)	(+)	(-)	(+/-)	(+)	В норме или (+)
Поздняя стадия реконвалесценции. Инфекция в недалеком прошлом	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	В норме
Инфекция в прошлом	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	В норме
Инфекция в далеком прошлом	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	В норме
Состояние после вакцинации	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	В норме
Анти-НВs(+)-хронический гепатит	(-)	(-)	(+)	(+)	(+/-)	(+)	Повышены



- 2) **антиген НВс** обнаруживается в инкубационный и продромальный периоды (до 3,5 мес.), его обнаружение свидетельствует о репликации вируса;
- 3) **антитела к НВс-антигену** появляются в острый период заболевания (3–4-й месяц) и сохраняются до нескольких лет;
- 4) **антитела класса IgM к ядерному антигену (анти-НВсAg IgM)** появляются в продромальном периоде и сохраняются до периода реконвалесценции (со 2-го по 6-й мес. заболевания);
- 5) **антитела класса IgG к ядерному антигену (анти-НВсAg IgG)** появляются в продромальном периоде и сохраняются на протяжении всей жизни (ведущий маркер ВГВ);
- 6) **антитела к поверхностному НВс-антигену (анти-НВсAg)** появляются в стадию поздней реконвалесценции (6-й месяц) и сохраняются до 5 лет.

### 2.2.3. Герпетическая инфекция

Герпетическая инфекция вызывается вирусами, объединенными в семейство герпес-вирусов. В настоящее время известно 8 типов вируса герпеса человека:

- вирус простого герпеса типа 1 — вызывает лабиальный герпес, герпес кожи и слизистых, офтальмогерпес, генитальный герпес, герпетические энцефалиты;
- вирус простого герпеса типа 2 — вызывает генитальный и неонатальный герпес;
- вирус герпеса человека типа 3 — вирус ветряной оспы, опоясывающего герпеса — вызывает ветряную оспу и опоясывающий герпес;
- вирус герпеса человека типа 4 — вирус Эпштейна—Барр — вызывает инфекционный мононуклеоз, назофарингеальную карциному, лимфому Беркитта, волосатую лейкоплакию;
- вирус герпеса человека типа 5 — цитомегаловирус человека — вызывает врожденные поражения ЦНС, ретинопатию, пневмонию;
- вирус герпеса человека типа 6 — лимфотропный вирус — возможно, является этиологическим агентом синдрома хронической усталости;

- вирус герпеса человека типа 7 — лимфотропный вирус — возможно, является этиологическим агентом синдрома хронической усталости;
- вирус герпеса человека типа 8 — саркома Капоши-ассоциированный вирус — вызывает саркому Капоши у ВИЧ-серонегативных людей и саркому Капоши, ассоциированную с ВИЧ-инфекцией и СПИДом.

Герпес-вирусы человека типа 1 (HSV-1) и типа 2 (HSV-2) относятся к ДНК-вирусам и характеризуются эффективным разрушением зараженных клеток, относительно коротким репродуктивным циклом и способностью пребывать в латентной форме в ганглиях нервной системы. При инфицировании вирусом простого герпеса человек пожизненно является носителем вируса, который может передаваться в период обострения инфекции. Инкубационный период для герпетической инфекции составляет от 1 до 26 дней. Ранее считалось, что HSV-1 вызывает преимущественно назолабиальный герпес, а HSV-2 — генитальный. В настоящее время установлено, что оба возбудителя вызывают герпетические поражения и той и другой локализации. Генерализованный герпес чаще вызывает HSV-2.

В развитых странах Западной Европы генитальный герпес встречается в 7 раз чаще, чем сифилис, и занимает второе место среди инфекций, передающихся половым путем, после трихомониаза. В США HSV служит наиболее частой причиной фатальных спорадических энцефалитов, часто ассоциируется с миелитом, радикулитом, восходящим параличом и, возможно, параличом Белла. Летальность у новорожденных с диссеминированной формой герпетической инфекции превышает 70 %.

Врожденная герпетическая инфекция при трансплацентарном инфицировании или восходящей (через родовые пути) инфекции в ранние сроки беременности приводит к смерти плода или порокам развития (микроцефалия, микрофтальмия, хориоретинит). При инфицировании в поздние сроки или в процессе родов возможна смерть плода или развитие у новорожденного генерализованной герпетической инфекции с тяжелым течением и поражением многих органов и систем. Летальность при генерализованной инфекции новорожденных составляет 80–90 %, при поражении только ЦНС — 50 % [Иванова В. В., 2002]. У половины



выживших отмечаются тяжелые резидуальные поражения ЦНС и печени. Только 10 % детей, получивших специфическую терапию, в дальнейшем могут развиваться удовлетворительно. Следует иметь в виду, что в случаях развития неонатальной герпетической инфекции у 60–80 % матерей имеется бессимптомная генитальная инфекция. Частота неонатального герпеса варьирует от 1:350 до 1:500 родов в США. У 80 % новорожденных герпес-вирусная инфекция обусловлена HSV-2, у 20 % — HSV-1. Инфицируются обычно недоношенные дети.

Для диагностики герпетической инфекции используют обнаружение антигена вируса в исследуемом материале (биоптат кожи, отделяемое мочеполовых органов и везикул) методом НИФ или ПЦР, однако наиболее распространенным методом диагностики служит выявление антител к вирусу HSV-1 и HSV-2 в сыворотке крови.

Инфекцию, обусловленную вирусом герпеса человека типа 6 или 8, диагностируют путем выявления специфических антител класса IgG в сыворотке крови или с помощью ПЦР. Наибольшую опасность вирус герпеса человека типа 6 или 8 представляет для тех пациентов, которые перенесли трансплантацию органов и тканей.

### 2.2.3.1. Антитела к вирусу простого герпеса типа 1 и 2 в сыворотке крови

Для определения антител классов IgM и IgG к HSV-1 и HSV-2 применяют РСК и ИФА. Оптимальное обследование должно включать определение антител разных классов отдельно к HSV-1 и HSV-2. Антитела IgM к HSV-1 и HSV-2 в крови появляются на 2–3-й неделе острой инфекции, пик титров отмечается через 4–6 нед. после развития клинической картины заболевания. Реинфекция у лиц с существовавшими до этого антителами IgM не вызывает существенного изменения их титра даже при выраженной клинической картине. Этот вид антител снижается в крови в течение 2–3 мес. после перенесенной инфекции. Антитела IgG к вирусу простого герпеса обнаруживают у 80–90 % взрослых людей (более 90 % лиц старше 40 лет имеют антитела), поэтому однократное определение уровня антител IgG к HSV-1 и HSV-2 в сыворотке крови не имеет клинического значения. Важно наблюдать за динамикой изменения уровня антител (нарастание их уровня или снижение). При острой инфекции или реактивации вируса выявляется нарастание уровня анти-

тел IgG. Антитела IgG сохраняются в крови более года. Нарастание уровня антител IgM при исследовании парных сывороток, взятых с интервалом 7–10 сут, свидетельствует о первичной герпетической инфекции, а IgG — о рецидивирующей. При использовании метода ИФА для диагностики инфекции необходимо помнить, что среднее время сероконверсии (исчезновение антител) для HSV-1 составляет 3,5 нед., а для HSV-2 — 3 нед. Чувствительность метода ИФА при исследовании антител к HSV-1 составляет 91–96 %, специфичность — 92–95 %, при исследовании антител к HSV-2 — 97–100 и 94–98 % соответственно.

Определение уровня антител к HSV-1 и HSV-2 применяют для диагностики герпетической инфекции, в том числе при иммунодефицитных состояниях, СПИДе, лимфопролиферативных заболеваниях.

В последнее время для диагностики герпетической инфекции используется выявление ДНК вируса HSV-1 и HSV-2 в материале из везикул и язв кожных покровов или слизистых оболочек (включая конъюнктиву глаз) методом ПЦР (очень чувствительный, специфичный и быстрый метод диагностики). Этот метод может быть использован для выявления вируса в СМЖ. Отрицательный результат ПЦР не позволяет исключить герпетическую инфекцию, так как из-за короткого репродуктивного цикла возбудителя (в эпителиальных клетках составляет всего 20 ч) материал для исследования может быть взят слишком рано или поздно. Положительный результат ПЦР свидетельствует только о наличии вируса в организме человека, но не позволяет отличить носительство от активно текущей инфекции.

#### 2.2.4. Ветряная оспа

Ветряная оспа и опоясывающий герпес — инфекционные болезни, вызываемые одним и тем же вирусом. Восприимчивость к ветряной оспе является всеобщей, но главным образом поражаются дети от 6 мес. до 7 лет. В типичных случаях заболевания, т. е. у большинства больных, диагностика его основана на клинических данных. Для лабораторного подтверждения диагноза используется метод РИФ (обнаружение вируса в очагах), а для обнаружения антител в сыворотке крови — РСК и ИФА.

#### 2.2.4.1. Антитела IgM к вирусу ветряной оспы в сыворотке крови

Антитела IgM к вирусу ветряной оспы в сыворотке крови в норме отсутствуют.

При использовании РСК антитела к вирусу ветряной оспы в сыворотке крови выявляются на 7–10-й день после появления сыпи и достигают пика ко 2–3-й неделе. В пользу острой инфекции свидетельствует 4-кратный подъем уровня антител (чувствительность — 50 %).

Верифицировать диагноз можно, используя метод ИФА, с помощью которого выявляют антитела классов IgM и IgG. Антитела IgM выявляются в течение 5 дней после появления сыпи и исчезают через несколько недель и месяцев. Определение антител IgM к вирусу ветряной оспы применяется для диагностики острого периода ветряной оспы (чувствительность — 86,1 %, специфичность — 98,9 %).

Антитела IgG появляются в период реконвалесценции и могут присутствовать в крови неопределенное время, диагностическим считается 4-кратное увеличение их уровня.

#### 2.2.5. Инфекционный мононуклеоз

Инфекционный мононуклеоз — общее системное лимфопролиферативное заболевание, которое чаще всего вызывается вирусом Эпштейна—Барр. *Toxoplasma gondii* и другие вирусы (цитомегаловирус, вирус иммунодефицита человека и недавно открытый вирус герпеса человека типа 6, являющийся причиной детской розеола) могут вызывать клинически подобные заболевания. Эти же этиологические агенты могут обуславливать развитие синдрома хронической усталости.

Вирус Эпштейна—Барр — вирус из группы герпеса, обладает тропизмом к В-лимфоцитам, длительно персистирует в клетках хозяина в виде латентной инфекции. Он широко распространен во всем мире. По структуре и размерам вирус Эпштейна—Барр не отличим от других герпес-вирусов, но существенно отличается от них по антигенным свойствам. Вирус имеет мембранный антиген (МА — membrane antigen), ядерный антиген (EBNA — Epstein—Barris nucleic antigen) и антиген вирусного капсида (VCA — virus capsid antigen).

Заражение происходит при передаче вируса со слюной. Вирус Эпштейна—Барр при попадании в организм инфицирует фарингеальный эпителий, вызывая воспаление и лихорадку, которые являются типичными клиническими признаками начала инфекционного мононуклеоза. Вирус строго лимфотропен, присоединяясь к CD4-рецептору клеточной мембраны В-лимфоцитов, он вызывает пролиферацию поликлональных В-лимфоцитов с соответствующим увеличением миндалин, системной лимфопатией и спленомегалией. В-лимфоциты трансформируются (приобретают способность к бесконечному делению), и в отсутствие адекватного клеточного иммунного ответа этот процесс может эволюционировать в явно злокачественный (например, Х-связанный лимфопролиферативный синдром). Если факторы клеточного иммунитета контролируют репликацию вируса Эпштейна—Барр в организме, то клинические симптомы инфекционного мононуклеоза постепенно исчезают, а лимфаденопатия и спленомегалия уменьшаются.

Подобно другим герпес-вирусам, вирус Эпштейна—Барр может сохраняться в виде латентной инфекции (его ДНК содержится в ядре небольшого количества В-лимфоцитов). Эпизодическая асимптоматическая реактивация инфекции является обычным явлением, и около 20 % здоровых молодых людей выделяют вирус Эпштейна—Барр со слюной. У лиц с поврежденным клеточным иммунитетом (СПИД, реципиенты трансплантатов, атаксическая телеангиэктазия) может развиться явная реактивная инфекция с волосистой лейкоплакией, интерстициальным пневмонитом и в виде моноклональной В-клеточной лимфомы. С вирусом Эпштейна—Барр связывают этиологию назофарингеальной карциномы и лимфомы Беркитта.

Одним из проявлений инфекционного мононуклеоза является появление в периферической крови атипичных лимфоцитов (до 10 % от общего количества лимфоцитов). Атипичные лимфоциты обнаруживают в крови с начала периода клинических проявлений инфекции. Их уровень в крови достигает пика к концу 2-й — началу 3-й недели и может держаться до 1,5–2 мес.; полное исчезновение обычно происходит к началу 4-го месяца от начала заболевания. Атипичные лимфоциты относительно нечувствительный признак инфекции, вызванной вирусом Эпштейна—Барр, но имеет общую специфичность около 95 %.

Пролиферация поликлональных В-лимфоцитов при инфекции, вызванной вирусом Эпштейна—Барр, генерирует большое количество разнообразных аутоантител в организме больного, таких как IgM-анти-*i* (холодовой агглютиници), РФ, АНА. Большинство необычных иммуноглобулинов, которые появляются при инфекционном мононуклеозе, получили название гетерофильных антител Пауля—Буннеля. Эти антитела относятся к классу IgM, имеют сродство к бараньим и лошадиным эритроцитам и не направлены к каким-либо антигенам вируса Эпштейна—Барр. Гетерофильные антитела являются случайными продуктами В-лимфоидной пролиферации (наведенной вирусом Эпштейна—Барр), которые появляются в 1-ю неделю инфекционного мононуклеоза, снижаются при выздоровлении, и их обычно не обнаруживают через 3–6 мес.

По мере того как начальная острая стадия инфекции переходит в латентную, во всех клетках в больших количествах появляются геномы вируса Эпштейна—Барр (уникальные антигены), а в окружающей среде выделяется ядерный антиген. В ответ на антигены синтезируются специфические антитела, которые являются ценными маркерами стадии заболевания. Вскоре после инфицирования В-лимфоцитов обнаруживается ранний антиген (early antigen — EA); он не является структурным вирусным компонентом, а считается белком, необходимым для репликации вируса Эпштейна—Барр. К раннему антигену в организме больного синтезируются антитела классов IgM и IgG. Совместно с полным вирионом вируса Эпштейна—Барр продуцируются VCA и мембранный антиген. По мере стихания инфекционного процесса небольшой процент инфицированных вирусом Эпштейна—Барр В-лимфоцитов избегают иммунной деструкции и сохраняют вирусный геном в латентной форме. EBNA ответственен за его дупликацию и выживание.

Лабораторные исследования, в зависимости от применяемых методов, позволяют выявить антитела к различным антигенам.

#### 2.2.5.1. Антитела к вирусу Эпштейна—Барр в сыворотке крови

Из серологических методов диагностики заболевания наиболее распространена реакция Пауля—Буннеля (агглютинации), направленная на выявление гетерофильных антител в сыворотке крови. Титр

гетерофильных антител 1:224 и выше в сыворотке крови больного является диагностическим и подтверждает диагноз инфекционного мононуклеоза. Гетерофильная агглютинация бывает положительной у 60 % молодых лиц через 2 нед. от начала клинических проявлений заболевания и у 90 % — через 4 нед. Поэтому для диагностики инфекционного мононуклеоза необходимо проводить несколько исследований — на 1-й неделе заболевания (реакция может быть отрицательной) и через 1–2 нед. (реакция может стать положительной). Уровень гетерофильных антител снижается по окончании острого периода инфекционного процесса, однако их титр можно определить в течение 9 мес. после появления клинических симптомов. Реакция Пауля—Буннеля может превратиться из положительной в отрицательную, даже когда имеются остаточные гематологические и клинические симптомы у пациента. Чувствительность метода у взрослых составляет 98 %, специфичность — 99 %. У детей с инфекционным мононуклеозом в возрасте до 2 лет гетерофильные антитела выявляются только у 30 % больных, в возрасте 2–4 года — у 75 %, старше 4 лет — более чем у 90 %. Чувствительность метода у детей составляет менее 70 %, специфичность — 20 %. Снижение, а затем повторное повышение титра гетерофильных антител может иметь место в ответ на другую инфекцию (наиболее часто при вирусных инфекциях верхних дыхательных путей). Реакция Пауля—Буннеля не специфична для вируса Эпштейна—Барр. Титр гетерофильных антител не дает перекрестной реакции и не коррелирует со специфическими антителами к вирусу Эпштейна—Барр; также нет корреляции с тяжестью течения заболевания. Тест бесполезен для диагностики хронической формы инфекционного мононуклеоза (положителен только у около 10 % пациентов).

Титры 1:56 и менее могут быть обнаружены у здоровых людей и у пациентов с другими заболеваниями (ревматоидный артрит, краснуха). Ложноположительные результаты теста встречаются очень редко.

В настоящее время для определения антител к эритроцитам барана используется метод «одного пятна» (слайдовая агглютинация), который применяется первоначально как скрининговый тест. По чувствительности он сопоставим с реакцией Пауля—Буннеля. Ложноположительными слайдовые тесты могут быть приблизительно в 2 % исследований (при лейкемии, злокачественной лимфоме,

малярии, краснухе, вирусных гепатитах, карциноме поджелудочной железы), а ложноотрицательными — у взрослых в 5–7 % случаев.

Следует отметить, что спектр выпускаемых фирмами диагностических тест-систем, основанных на определении титра антител, очень широк, поэтому необходимо ориентироваться на диагностический титр антител, указанный в инструкции к тест-системам.

Если гетерофильные антитела не выявляются, а клиническая картина заболевания соответствует инфекционному мононуклеозу, необходимо исследовать сыворотку крови на специфические антитела классов IgM и IgG. Для выявления специфических к вирусу Эпштейна—Барр антител используют методы НИФ (позволяет обнаруживать антитела к EA и VCA), антикомplement-иммунофлюоресценции (обнаруживает антитела к EA, VCA и EBNA) и ИФА.

Антитела к EA D-компоненту (анти-EA-D) появляются еще в скрытый период первичной инфекции и быстро исчезают с выздоровлением.

Антитела к EA R-компоненту (анти-EA-R) можно обнаружить через 3–4 нед. после клинических проявлений заболевания; они сохраняются в сыворотке крови около года; часто выявляются при атипичных или затяжных течениях инфекционного мононуклеоза; обычно эти антитела находят при лимфоме Беркитта.

Антитела к VCA класса IgM (анти-VCA IgM) появляются очень рано, обычно до клинических симптомов, и обнаруживаются в начале заболевания в 100 % случаев; высокие титры бывают на 1–6-й неделе от начала инфекции, снижаются с 3-й недели и обычно исчезают через 1–6 мес. Анти-VCA IgM почти всегда присутствуют в сыворотке крови при активной инфекции, поэтому очень чувствительны и специфичны для острого эпизода инфекционного мононуклеоза.

Антитела к VCA класса IgG (анти-VCA IgG) могут появиться рано (1–4-я неделя), достигают пика ко 2-му месяцу заболевания. В начале заболевания обнаруживаются в 100 % случаев. Только у 20 % пациентов выявляют 4-кратное увеличение титра при исследовании парных сывороток. Титр снижается при выздоровлении, но обнаруживается в течение нескольких лет после перенесенной инфекции, поэтому бесполезен для диагностики инфекционного мононуклеоза. Наличие анти-VCA IgG свидетельствует о состоянии после инфекции и иммунитете.

Антитела к EBNA (анти-EBNA) появляются позже всех, редко выявляются в острой фазе заболевания; их уровень возрастает в период выздоровления (3–12 мес.); могут сохраняться в крови в течение многих лет после болезни. Отсутствие анти-EBNA при наличии анти-VCA IgM и анти-EA IgM свидетельствует о текущей инфекции. Обнаружение анти-EBNA после ранее негативной реакции свидетельствует о существующей инфекции. При использовании метода ИФА можно одновременно определить анти-EBNA классов IgM и IgG. Если количество анти-EBNA IgM больше анти-EBNA IgG — острая инфекция, при обратном соотношении — ранее перенесенная.

В пользу острой первичной инфекции свидетельствует наличие одного или более перечисленных ниже признаков [Wallach J. M. D., 1996]:

- анти-VCA IgG, которые рано обнаруживаются, а снижаются позже;
- высокий титр (более 1:320) или 4-кратный подъем титра анти-VCA IgG в течение болезни;
- преходящий подъем титра анти-EA-D (1:10 или более);
- ранний анти-VCA IgG без анти-EBNA, а позже появление анти-EBNA.

Острая или первичная инфекция, вызванная вирусом Эпштейна—Барр, исключается, если титры анти-VCA IgG и анти-EBNA в сыворотке крови не изменяются при исследовании в динамике (в острый период и при выздоровлении).

Постоянное присутствие EA и анти-VCA IgG в высоких титрах указывает на хроническую фазу инфекции.

В табл. 2.15 приведены профили серологических тестов в различных стадиях инфекционного мононуклеоза, а на рис. 2.11 представлена динамика выявления антител к вирусу Эпштейна—Барр.

Определение антител к вирусу Эпштейна—Барр применяется для диагностики инфекционного мононуклеоза и хронических инфекций, вызванных вирусом Эпштейна—Барр.

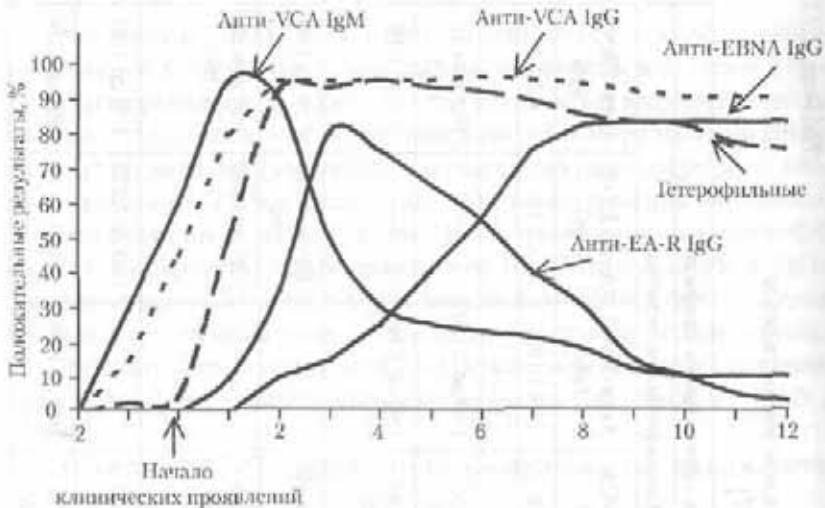
Антитела к вирусу Эпштейна—Барр могут выявляться при следующих заболеваниях: вторичные иммунодефицитные состояния, в том числе СПИД, карцинома носоглотки, лимфома Беркитта, цитомегаловирусная инфекция, сифилис, болезнь Лайма, бруцеллез и др.

Поскольку инфекционный мононуклеоз является системным лимфопролиферативным заболеванием, которое может вызываться



Серологические профили при инфекционном мононуклеозе  
[Rose N. R. et al., 1997]

Клинический статус	Характеристика антительного профиля					
	Гетерофильные антитела (качественный тест)	Специфические антитела				
		Анти-VCA IgM	Анти-VCA IgG	Анти-EA-D IgG	Анти-EA-R IgG	Анти-EBNA IgG
Отрицательная реакция	Нет	< 1:8	< 1:10	< 1:10	< 1:10	< 1:2,5
Не инфицированные	Нет	—	—	—	—	—
Острая первичная инфекция (инфекционный мононуклеоз)	+	1:32 до 1:256	1:160 до 1:640	1:40 до 1:160	—	Нет или до 1:2,5
Свежая (текущая) первичная инфекция (инфекционный мононуклеоз)	±	Нет или до 1:32	1:320 до 1:1280	1:40 до 1:160	—	1:5 до 1:10
Отдаленное постинфекционное состояние	—	—	1:40 до 1:160	—	Нет или до 1:40	1:10 до 1:40
Реактивация инфекции у пациентов с иммуносупрессией или у иммунокомпроментированных лиц	—	—	1:320 до 1:1280	—	1:80 до 1:320	Нет или до 1:160
Лимфома Беркитта	—	—	1:320 до 1:1280	—	1:80 до 1:320	1:10 до 1:80
Назофарингеальная карцинома	—	—	1:320 до 1:1280	1:40 до 1:160	—	1:20 до 1:160



**Рис. 2.11.** Динамика обнаружения антител при инфекционном мононуклеозе

рядом этиологических агентов, очень важно правильно построить тактику обследования таких пациентов. На схеме 2.6 приведен алгоритм использования серологических тестов у больных с симптомами острого мононуклеоза.

### 2.2.6. Цитомегаловирусная инфекция

Цитомегаловирусная инфекция — вирусное заболевание преимущественно детей раннего возраста, характеризующееся многообразием клинической симптоматики и специфической морфологической картиной с присутствием цитомегалических клеток на фоне лимфо-гистиоцитарных инфильтратов. Возбудитель цитомегаловирусной инфекции принадлежит к семейству *Herpes viridae* (вирус герпеса человека типа 5), подсемейству бета, роду *Cytomegalovirus* (CMV — ЦМВ). Особенности ЦМВ являются более крупный ДНК-геном (диаметр нуклеокапсида 100–120 нм), возможность репликации без повреждения клеток, медленная репликация, сравнительно низкая вирулентность, резкое угнетение клеточного иммунитета. Как и другие вирусы этого семейства, ЦМВ способен вызывать перси-



**Схема 2.6.** Алгоритм обследования пациентов с подозрением на инфекционный мононуклеоз

стентную и латентную инфекцию и реактивироваться в условиях ослабления иммунитета. ЦМВ распространен повсеместно. От 0,5 до 2,5 % новорожденных детей инфицируются им в период внутриутробного развития, 10 % из них погибают в течение года. Инфицирование плода может вызвать нарушение функциональных механизмов дифференцировки клеток и тканей органов. Примерно 10–60 % детей заражаются при прохождении через родовые пути и в первые 6 месяцев жизни через грудное молоко [Гришаев М. П., 1996]. В зависимости от сроков и механизмов инфицирования различают:

#### 1. Перинатальное инфицирование.

##### 1. Пренатальное:

- выкидыши, мертворождения;
- пороки развития;
- врожденная ЦМВ-инфекция.

##### 2. Интра- и постнатальное:

- острое инфекционное заболевание;
- латентное носительство, субклинические формы хронической инфекции;
- реактивация инфекции.

II. Инфицирование через кровь, слюну, мочу, при сексуальном контакте.

1. Острое инфекционное заболевание.
2. Латентное носительство.
3. Реактивация инфекции.

Характер поражения плода зависит от сроков инфицирования ЦМВ. Заражение в ранние сроки беременности приводит в ряде случаев к внутриутробной гибели плода и выкидышам, мертворождениям, рождению детей с пороками развития (сужение легочного ствола и аорты, дефекты межпредсердной и межжелудочковой перегородок, фиброэластоз миокарда, микроцефалия, гипоплазия легких, атрезия пищевода, аномалии строения почек и др.). При заражении в поздние сроки беременности пороки развития не формируются. Однако с первых дней после рождения у ребенка выявляют желтуху, гепатоспленомегалию и геморрагический синдром. Поражаются и другие органы и системы: легкие (интерстициальная пневмония), ЦНС (гидроцефалия, менингоэнцефалит), ЖКТ (энтерит, колит, поликистоз поджелудочной железы), почки (нефрит).

При интранатальном и раннем постнатальном инфицировании клинические признаки заболевания выявляют в первые 1–2 мес. после родов.

Лабораторная диагностика ЦМВ-инфекции основана на выявлении специфических антител в сыворотке крови инфицированных или ДНК вируса в биологических жидкостях организма (кровь, слюна, моча, эякулят, пунктаты печени, лимфатических узлов) методом ПЦР, а также антигенов вируса в лимфоцитах мазка периферической крови методом НИФ (быстрый и чувствительный метод).

#### 2.2.6.1. Антитела IgM и IgG к цитомегаловирусу в сыворотке крови

**Антитела IgM к ЦМВ в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

В серологической диагностике ЦМВ-инфекции используется много реакций, однако по-настоящему полезны те из них, которые

могут выявить антитела, относящиеся к классам IgM и IgG. В последнее время наиболее широко применяют метод ИФА.

Антитела IgM (титр 1:32 и выше) появляются в течение 1–2 нед. после начала заболевания и свидетельствуют о свежем инфицировании или реактивации латентной и персистентной инфекции. Титр 1:16 может сохраняться в течение 12 мес. у 24 % пациентов. Однако следует иметь в виду, что у части больных повышение антител класса IgM может не выявляться в течение первых 4 нед. после начала заболевания. Наличие антител IgM у беременных является показанием для кордоцентеза и исследования крови плода на их наличие. При выявлении антител IgM плод считается инфицированным. При врожденной ЦМВ-инфекции титр антител IgM высокий, постепенно он снижается, и на втором году жизни ребенка они могут отсутствовать. При оценке результатов выявления антител IgM следует учитывать, что наличие циркулирующего РФ может привести к ложноположительным результатам исследования.

Антитела IgG появляются через 2–4 нед. после заражения и сохраняются у переболевших до 10 лет. О наличии инфекции свидетельствует только 4-кратное увеличение титра антител IgG при исследовании парных сывороток. Частота выявления антител класса IgG может достигать 100 % среди различных групп населения.

Известно, что 15–20 % вирусных гепатитов обусловлено поражением печени ЦМВ [Гришаев М. П., 1996]. Кроме того, продукты IE-генов ЦМВ способны трансактивировать экспрессию HBs- и Сog-антигенов вирусного гепатита В. Поэтому, возможно, ЦМВ играет этиологическую роль в возникновении карцином печени. Установлена связь ЦМВ-инфекции с развитием сахарного диабета. ЦМВ поражает многие типы клеток крови и может персистировать в моноцитах, макрофагах, мегакариоцитах, что в ряде случаев приводит к тромбоцитопении.

Группой наибольшего риска для ЦМВ-инфекции являются лица с искусственной или естественной иммуносупрессией — ВИЧ-инфицированные, реципиенты органов, тканей, клеток, онкологические больные. Сроки проявления оппортунистических инфекций у пациентов после трансплантации органов и их основные этиологические агенты приведены в табл. 2.16 [Rich R. R. et al., 2001].

Таблица 2.16

## Сроки проявления оппортунистических инфекций у пациентов после трансплантации органов

Месяцы после трансплантации	Основные факторы риска	Основные патогены
1	Хирургическая травма, внутрисосудистые катетеры; наличие инфекции у донора или реципиента (до операции)	Внутрибольничные штаммы бактерий и грибов
2–6	Иммуносупрессивная терапия	<i>Cytomegalovirus</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Pneumocystis carinii</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Candida tuberculostis</i> , вирус гепатита В или С, вирус Эпштейна—Барр
Более 6	Иммуносупрессивная терапия Хроническая вирусная инфекция	<i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Nocardia spp.</i> Поздние проявления хронического гепатита. Лимфопролиферативные проявления вирусной инфекции Эпштейна—Барр. Цитомегаловирусный ретинит

Определение антител IgM и IgG к цитомегаловирусу используют для диагностики острого периода ЦМВ-инфекции, в том числе при иммунодефицитных состояниях, СПИДе, лимфопролиферативных заболеваниях, и для определения периода реконвалесценции ЦМВ-инфекции.

#### 2.2.6.2. Определение avidности антител класса IgG к цитомегаловирусу

Подтверждение или исключение факта недавнего первичного инфицирования ЦМВ особенно важно при обследовании беременных женщин, поскольку риск патологии развития плода существенно увеличен при остром первичном инфицировании во время беременности, по сравнению с хронической инфекцией и реактивацией латентной инфекции. Поэтому постоянно идет поиск новых диагно-

стических подходов, позволяющих максимально достоверно оценить стадию и форму инфекционного процесса. Определение avidности антител класса IgG к ЦМВ при подозрении на цитомегаловирусную инфекцию в качестве индикатора срока первичного инфицирования было предложено финскими исследователями К. М. Hedman и соавт. [1989] и в настоящее время в ряде стран введено в клиническую практику в качестве дополнительного (в ряде стран обязательного) метода исследования при подозрении на цитомегаловирусную инфекцию у беременных женщин.

Одновременное выявление в сыворотке крови специфических антител класса IgG и IgM к ЦМВ обычно свидетельствует о недавнем первичном инфицировании, поскольку срок исчезновения IgM-антител составляет в среднем около 3 мес. от начала инфекционного процесса. Однако период циркуляции антител класса IgM может значительно варьировать в зависимости от индивидуальных особенностей иммунного ответа организма. В некоторых случаях при инфицировании ЦМВ следовые количества антител класса IgM выявляются в течение 1 года. В связи с этим их присутствие в крови беременной женщины не всегда служит подтверждением первичного инфицирования в период беременности. Кроме того, специфичность тест-систем для обнаружения антител класса IgM не достигает 100 %. В ряде ситуаций, как следствие очень высокой чувствительности тест-систем, возможны неспецифические ложноположительные результаты. Выявление в крови высокоавидных антител класса IgG в таких случаях позволяет исключить недавнее первичное инфицирование. Низкоавидные IgG-антитела наиболее часто выявляют в течение 3–5 мес. от начала инфекции (это может в определенной степени зависеть от метода определения), но иногда вырабатываются и в течение более длительного срока. Само по себе обнаружение низкоавидных IgG-антител не является безусловным подтверждением факта свежего инфицирования, но служит дополнительным подтверждающим серологическим тестом в сложных случаях. При реактивации цитомегаловирусной инфекции выявляют специфические антитела класса IgG к ЦМВ высокой avidности.

В основе тестов на определение avidности лежит метод дифференциации высоко- и низкоавидных антител с помощью обработки комплексов антиген-антитело раствором мочевины, вызывающим денатурацию белка. После такой обработки связь низкоавидных

антител с антигеном нарушается. Авидность антител класса IgG к ЦМВ в пробе оценивают с помощью расчетного показателя — индекса авидности, который представляет собой отношение результата иммуноферментного определения концентрации IgG-антител в пробе, подвергнутой обработке мочевиной, к результату измерения концентрации IgG-антител в пробе, не обработанной денатурирующим агентом.

Оценка результатов у пациентов с подозрением на инфицирование ЦМВ проводится в соответствии с приведенными ниже данными:

- индекс авидности антител класса IgG к ЦМВ меньше 0,8 означает присутствие низкоавидных антител класса IgG к ЦМВ; в этом случае нельзя исключить первичное инфицирование ЦМВ в течение последних 3 мес.;
- индекс авидности антител класса IgG к ЦМВ больше или равный 0,8 означает присутствие высокоавидных антител класса IgG к ЦМВ и позволяет исключить первичное инфицирование ЦМВ в течение последних 3 мес.

Вместе с тем, клиницист должен понимать всю сложность и ответственность правильной оценки результатов исследования авидности антител класса IgG к ЦМВ для установления срока инфицирования беременной женщины. Поэтому данные первого теста необходимо подтвердить при повторном тестировании.

### 2.2.7. Корь

Возбудитель кори (morbilli) — *polinosa morbillarum* — относится к классу РНК-вирусов. Заболевают корью чаще дети дошкольного возраста. Однако лица, не болевшие корью, остаются высоко восприимчивыми к ней в течение всей жизни и могут заболеть в любом возрасте. Заболеваемость корью выше в холодные периоды года (с ноября по март); через каждые 2–4 года наблюдаются подъемы заболеваемости. Для экспресс-диагностики кори используют обнаружение антигена в клетках отделяемого носоглотки или кожи (из элементов сыпи) методом иммунофлюоресцентной микроскопии (в реакции применяют меченный флюорохромом коревой IgG). Дополнительным подтверждением инфекции может служить обнаружение многоядерных клеток в отделяемом носоглотки или



мазках-отпечатках после окраски по Романовскому—Гимзе или Цавловскому. Выявление антител к возбудителю кори осуществляют в РТГА (реакция торможения гемагглютинации), РСК, РНГА (реакция непрямой гемагглютинации) и ИФА.

#### 2.2.7.1. Антитела IgM и IgG к вирусу кори в сыворотке крови

**Антитела IgM к вирусу кори в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Серологические методы исследования применяются для подтверждения диагноза, особенно стертых, атипичных форм. Наиболее часто используют РТГА и РСК. Специфическая диагностика является ретроспективной, поскольку в этих реакциях учитывается нарастание титра антител в парных сыворотках. Первую пробу крови берут не позже 3-го дня периода высыпаний, вторую — спустя 10–14 дней. Диагноз считается верифицированным только при нарастании титра антител в 4 раза и более. При применении метода ИФА выявляют антитела классов IgM и IgG.

Антитела IgM обнаруживаются в острый период инфекции (в течение 6 дней после появления сыпи у 80 % пациентов, через 7 дней — у 95 %), достигают пика через 2–3 нед., держатся в течение 4 нед. и затем постепенно снижаются (50 % пациентов становятся серонегативными через 4 мес.) [Королюк А. М., Сбойчаков В. Б., 2002]. Антитела IgG появляются в период реконвалесценции и у переболевших сохраняются до 10 лет. Обнаружение антител IgG в конце острого периода заболевания является прогностически благоприятным признаком. Выявление в сыворотке крови антител IgM или возрастание уровня антител IgG в парных сыворотках более чем в 4 раза указывает на текущую инфекцию. Ложноположительные результаты определения антител IgM можно получить при хроническом активном гепатите, СКВ, инфекционном мононуклеозе.

Определение антител IgG применяется для ретроспективной диагностики кори и оценки напряженности противокорревого иммунитета.

#### 2.2.8. Вирусный паротит

Возбудитель эпидемического паротита относится к миксовирусам. Эпидемическим паротитом чаще болеют дети 3–10 лет. В распро-

странении инфекции большое значение имеют бессимптомные формы эпидемического паротита. Частота этих форм составляет 21,8–88 % по отношению к общему числу инфицированных [Матковский В. С., Казанцев А. П., 1970]. Основным методом лабораторной диагностики эпидемического паротита является определение антител класса IgM к вирусу паротита в сыворотке крови.

#### 2.2.8.1. Антитела IgM к вирусу паротита в сыворотке крови

**Антитела IgM к вирусу паротита в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Дети до 2 лет болеют эпидемическим паротитом редко, но затем заболеваемость возрастает и достигает пика к 5–9 годам. Диагностика эпидемического паротита основывается на клинической картине заболевания. Серологическое подтверждение острой инфекции может быть получено с помощью ИФА, позволяющего определять антитела класса IgM. Последние появляются в острый период инфекции (на 2-й день заболевания выявляют у 70 % пациентов, к 5-му дню — у 100 %) и сохраняются до 2 лет (у 50 % пациентов — более 5 мес.). Обнаружение в сыворотке крови антител IgM или возрастание уровня антител IgG в парных сыворотках более чем в 4 раза (чувствительность — 88 %) указывает на текущую инфекцию. Определение антител IgM к вирусу паротита применяется для диагностики острого периода паротита.

РСК обладает меньшими чувствительностью и специфичностью. Для подтверждения диагноза требуется проведение анализа парных сывороток. Нарастание титров в процессе заболевания в 4 раза и более является диагностическим. При однократном исследовании диагностический титр составляет 1:80 и выше.

#### 2.2.9. Т-клеточный лейкоз

HTLV-1 и HTLV-2 (human T-lymphotropic virus) относятся к группе ретровирусов. Вирус HTLV-1 обнаруживают у больных Т-клеточным лейкозом и HTLV-1-ассоциированным миелопатическим/тропическим спастическим парапарезом, а вирус HTLV-2 — у больных волосатоклеточным лейкозом и атаксией. Обе формы лейкоза характеризуются злокачественной трансформацией Т-лимфоцитов.

Т-клеточный лейкоз встречается спорадически в Европе и Северной Америке, эндемическая форма обнаружена в южной части Японии и странах Карибского моря. Инфекция HTLV протекает как лихорадочное заболевание с обратимым процессом Т-клеточной пролиферации, лишь дополнительные транслокации приводят к злокачественной пролиферации. Вирус HTLV-1 повышает риск появления транслокаций. Выявление антител к вирусу Т-клеточного лейкоза помогает клиницисту в установлении этиологических причин лихорадки неясного генеза. У больных антитела появляются в конце острого периода заболевания, но не у всех. Различают две основные формы клеток при Т-клеточном лейкозе: клетки хелперы/индукторы (маркер CD4) или супрессоры/цитотоксические клетки (маркер CD8). Хелперный тип протекает как агрессивный лейкоз с высоким лейкоцитозом и относительно короткой продолжительностью жизни. Если клетки несут в основном маркер CD8, прогноз заболевания несколько более благоприятный [Лысенко А. Я., 1995].

Современные эпидемиологические исследования показали смешанное присутствие обоих вирусов (HTLV-1 и HTLV-2) среди различных групп населения, относящихся к группам высокого риска (частые внутривенные введения лекарств и гемотрансфузии). HTLV может быть возбудителем следующих заболеваний: острые и хронические лейкозы, острый и хронический лимфолейкозы, Т-клеточная лимфома, синдром Сезари, волосатоклеточный лейкоз, лимфаденопатии, лимфопролиферативные заболевания.

#### 2.2.9.1. Антитела к вирусу Т-клеточного лейкоза в сыворотке крови

**Антитела к вирусу Т-клеточного лейкоза в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Для выявления антител к вирусам HTLV-1 и HTLV-2 используют методы ИФА и хемилюминесценции, которые имеют высокую чувствительность (98,9–100 % для HTLV-1 и 91,5–100 % для HTLV-2) и специфичность (100 %). Антитела в крови появляются в период от 36 до 72 дней после инфицирования (в среднем — 51 день). Исследование является скрининговым, и для подтверждения первично выявленных положительных результатов необходимо проведение иммуноблоттинга или ПЦР. Алгоритм серологической диагностики Т-клеточного лейкоза приведен на схеме 2.7.

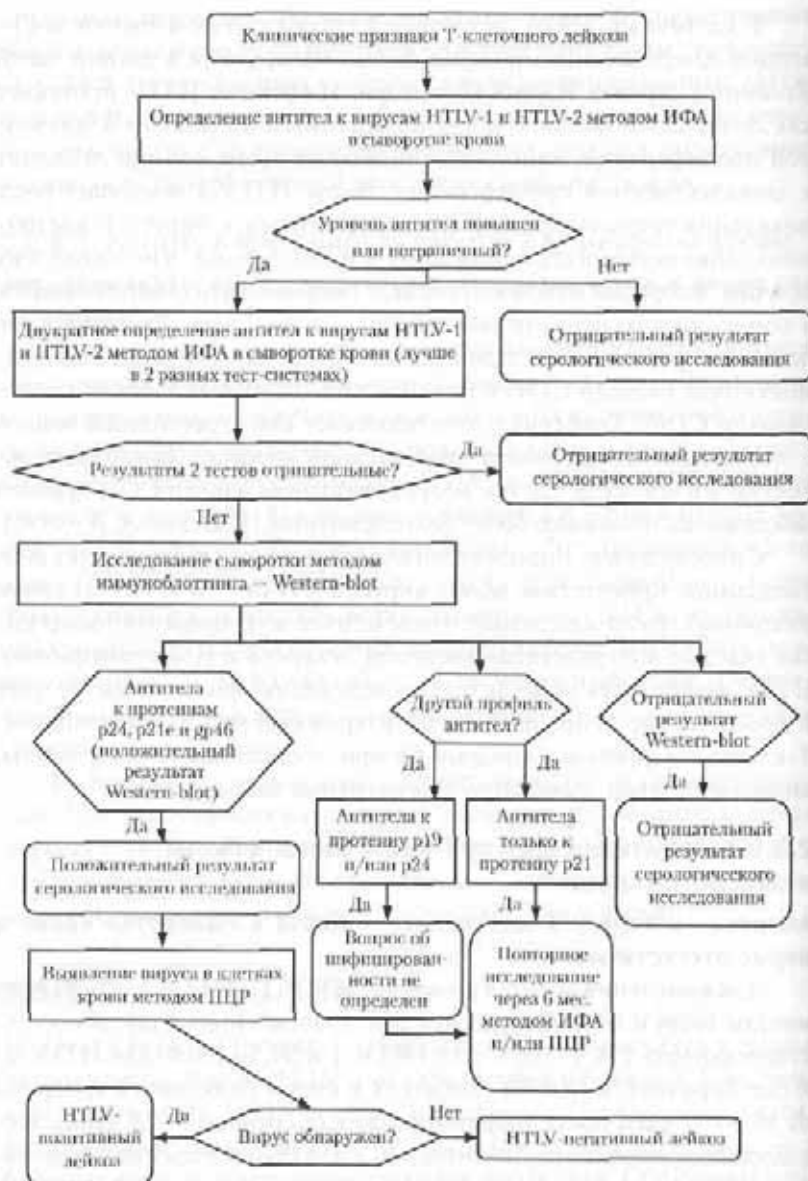


Схема 2.7. Алгоритм обследования пациентов с подозрением на Т-клеточный лейкоз

### 2.2.10. Краснуха

Краснуха (rubeola) — острое инфекционное антропонозное заболевание, передающееся воздушно-капельным путем. Возбудитель краснухи относится к семейству *Togaviridae*, роду *Rubivirus*. Вирионы содержат РНК. Заболевание широко распространено во всех странах. Заболеваемость краснухой без вакцинопрофилактики составляет в среднем 250–300 случаев на 100 000 населения и через каждые 8–12 лет принимает характер эпидемий, когда заболевает 1–2 % населения. Для краснухи характерна зимне-весенняя сезонность заболеваемости. У 30–50 % инфицированных краснуха протекает в бессимптомной форме.

У 15–50 % женщин имеется потенциальная опасность инфицирования краснухой во время беременности. Наибольшую опасность для потомства представляет наличие у беременных стертых и латентных форм краснухи, сопровождающихся персистенцией возбудителя. При врожденной краснухе вирус проникает в плод с кровью матери. Инфицирование плода вирусом краснухи в зависимости от срока беременности вызывает различные пороки его развития. При заражении матери в первые 2 месяца беременности развиваются пороки сердца (открытый артериальный проток, стеноз легочной артерии и ее ветвей, дефекты межпредсердной и межжелудочковой перегородки, тетрада Фалло и др.), поражения органа зрения (катаракта, глаукома, ретинопатия). Инфицирование матери на 3–4-м месяце беременности приводит к формированию пороков ЦНС (микроцефалия, паралич конечностей, нарушение психического развития) и поражению органа слуха (глухота, дефекты кортиева органа). Врожденные пороки чаще бывают сочетанными, реже — изолированными. Чем в более ранние сроки происходит заражение матери, тем выше вероятность поражения плода и шире диапазон возможных аномалий развития. При заболевании матери в первые 6 недель беременности частота врожденных аномалий у новорожденного составляет 56 %, при инфицировании на 13–16-й неделе беременности — 6–10 % [Иванова В. В., 2002]. После 16-й недели беременности вирус обычно не поражает плод.

В неонатальном периоде для врожденной краснухи характерны тромбоцитопеническая пурпура, желтуха с высоким уровнем билирубина в крови, гепатит, асептический хронический энцефаломиелит, гемолитическая анемия. Большая часть этих проявлений

исчезает в течение первых 6 месяцев жизни. Однако врожденная краснуха может проявиться через много лет после рождения в виде хронического краснушного инфекционного процесса, при котором серьезно поражаются различные органы и системы.

Точный диагноз краснухи можно установить только посредством выделения и идентификации вируса либо на основании изменений титров специфических антител. Для серологической диагностики используется РТГА и ИФА.

#### **2.2.10.1. Антитела IgM и IgG к вирусу краснухи в сыворотке крови**

**Антитела IgM к вирусу краснухи в сыворотке крови в норме отсутствуют. Для антител IgG диагностически значимыми являются значения более 35 МЕ/мл.**

Специфические антитела в РТГА можно обнаружить на 2-й день после появления высыпаний, причем количество их увеличивается в течение последующих 10–21 дней. В первые дни болезни антитела к вирусу краснухи могут определяться в довольно низких (1:10–1:20) или средних (1:160) титрах. На 7-й день заболевания и позже антитела выявляют у всех больных и преимущественно в высоких (1:1280–1:2560) титрах. Диагностическое значение имеет 4-кратный или больший подъем титра антител либо титр более 1:40 при однократном исследовании.

Для диагностики краснухи используют также метод ИФА, позволяющий выявлять специфические антитела классов IgM и IgG. Динамика выявления антител при использовании метода ИФА соответствует результатам РТГА. Антитела IgM появляются в острый период инфекции: в 1-й день высыпаний — у 50 % больных, через 5 дней — более чем у 90 % и через 11–25 дней — у всех больных. Наличие специфических антител класса IgM свидетельствует о недавно произошедшем заражении краснухой (в пределах 2 мес.). Через 6 нед. после высыпаний антитела IgM выявляют у 50 % больных, однако в некоторых случаях они могут сохраняться до года. При врожденной инфекции антитела IgM обнаруживаются сразу после родов и сохраняются до 6 мес. у 90–97 % новорожденных (рис. 2.12). Ложноположительные результаты исследования антител IgM могут быть получены у больных, инфицированных парвовирусом B19.

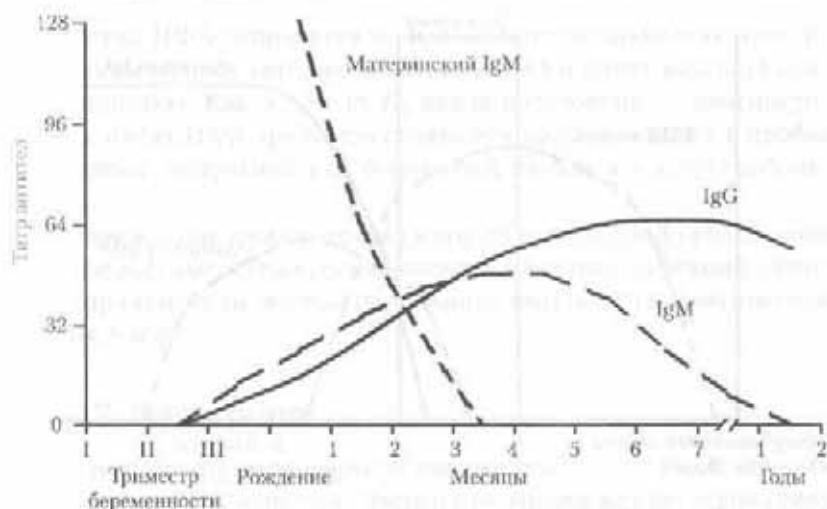


Рис. 2.12. Изменение спектра антител при врожденной краснухе [Murray P. R. et al., 1995]

Обнаружение антител класса IgM используют для диагностики острого периода заболевания. После вакцинации антитела IgM обнаруживаются через 15–25 дней в 60–80 % случаев. При реинфекции уровень антител IgM не повышается (необходимо исследовать динамику антител IgG — 4-кратное увеличение уровня в парных сыворотках подтверждает диагноз). Низкие уровни антител IgM могут быть обнаружены при инфекционном мононуклеозе и других вирусных инфекциях (ЦМВ, корь, герпес).

Антитела IgG выявляют через 3 дня после появления высыпаний у 50 % больных, через 8 дней — более чем у 90 %, на 15–25-й день — почти у всех пациентов. У переболевших антитела IgG сохраняются до 10 лет и более. Определение антител класса IgG используют также для оценки напряженности поствакцинального иммунитета (появляются на 25–50-й день после вакцинации) и определения инфекции в анамнезе. Отсутствие антител IgG у новорожденных исключает врожденную инфекцию. Динамика основных маркеров краснухи представлена на рис. 2.13.

При оценке вакцинации о ее эффективности свидетельствуют значения РТГА более 1:20, для ИФА — антитела IgG выше 15 МЕ/л.

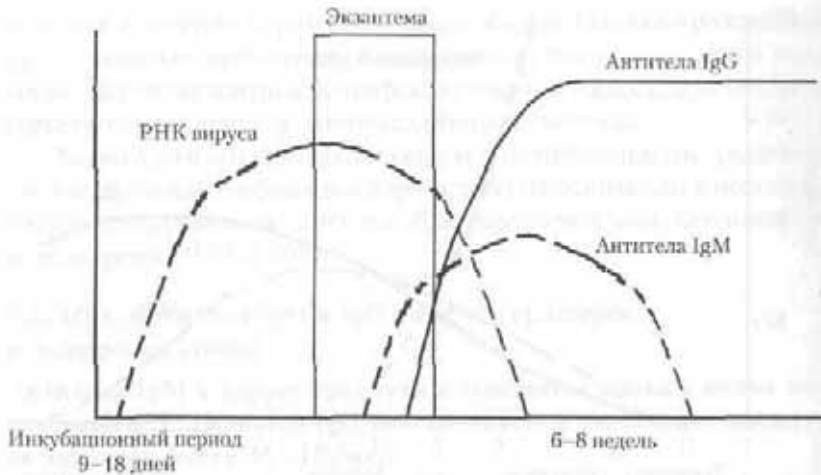


Рис. 2.13. Динамика основных маркеров краснухи

### 2.2.11. Грипп

Возбудители гриппа относятся к семейству ортомиксовирусов, роду *Influenzavirus*, включающих два вида вирусов гриппа — А и В. Вирусы гриппа содержат РНК и наружную оболочку, в которой размещены два антигена — гемагглютинин и нейраминидаза, способные менять свои свойства, особенно у вируса типа А. Для диагностики заболевания используют метод иммунофлуоресценции (прямой и непрямой), который позволяет выявлять вирус гриппа в отделяемом из верхних дыхательных путей или в мазках из носа (чувствительность — 58–100 %, специфичность — 88–100 %), а также выявление антигена NP (нуклеопротеинный белок, ассоциированный с РНК) или М-протеина (основной белок вирусной частицы) вируса гриппа методом ИФА (чувствительность — 40–100 %, специфичность — 52–100 %).

#### 2.2.11.1. Антитела к вирусу гриппа А и В в сыворотке крови

Для обнаружения антител к вирусам гриппа применяют РСК или ИФА. При РСК исследование проводят в начале заболевания (1–2-й день) и через 5–7 дней, диагностическим считается нарастание титра антител не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток.



Метод ИФА отличается большей чувствительностью (по сообщениям разных авторов, от 39 до 100 %) и очень высокой специфичностью. Как и при РСК, для использования в диагностических целях ИФА требуется сравнение уровня антител в пробах сыворотки, полученных от больного в начале и в конце заболевания.

Определение уровня антител к вирусу гриппа А и В применяется для диагностики острых респираторных вирусных инфекций, оценки напряженности поствакцинального иммунитета, диагностики гриппа А и В.

### 2.2.12. Парагрипп

Известно четыре типа вирусов парагриппа — 1, 2, 3, 4; все они относятся к РНК-вирусам. Выделение вируса во внешнюю среду происходит в течение 1-й недели заболевания. В межэпидемическое по гриппу время парагриппозные заболевания составляют до 15–30 % всех острых респираторных инфекций у взрослых. Обнаружение вируса парагриппа в назофарингеальном отделяемом выполняют с помощью метода РИФ. Для выявления специфических антител к вирусам в сыворотке крови используют РСК или ИФА.

#### 2.2.12.1. Антитела к вирусу парагриппа 1, 2, 3, 4 в сыворотке крови

При РСК исследование проводят в начале заболевания и через 5–7 дней, диагностическим считается нарастание титра антител не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток. Однако даже при такой динамике антител оценивать результаты исследования нужно с большой осторожностью, так как вирусы парагриппа и паротита имеют антигенное родство, поэтому возможно 4-кратное и более увеличение титра антител к вирусам парагриппа у лиц после недавно перенесенного вирусного паротита [Королюк А. М., Сбойчаков В. Б., 2002].

По сравнению с РСК метод ИФА (позволяет выявлять антитела IgM и IgG) отличается большей чувствительностью (по данным разных авторов, от 49 до 94 %). Однако, как и при РСК, для использования в диагностических целях ИФА требуется сравнение

уровня антител в пробах сыворотки, полученных от больных в начале и в конце заболевания. Это обусловлено тем, что даже отдельное определение повышенного уровня антител IgM не позволяет однозначно подтвердить этиологический диагноз из-за гетерофильности этой группы антител (дают перекрестную реакцию с антигенами других вирусов).

Определение антител к вирусу парагриппа 1, 2, 3, 4 применяется для диагностики острых респираторных вирусных инфекций, оценки напряженности поствакцинального иммунитета, диагностики парагриппа.

### 2.2.13. Аденовирусная инфекция

В настоящее время у человека выделено более 40 серотипов аденовирусов. Аденовирусные заболевания широко распространены как в виде спорадических случаев, так и в виде вспышек. Аденовирусными инфекциями чаще всего болеют младенцы и дети. Среди острых респираторных заболеваний в межэпидемическое время удельный вес аденовирусных инфекций колеблется от 3 до 20 %, во время вспышек может достигать до 80–90 % [Матковский В. С., Казанцев А. П., 1970]. Для этиологической диагностики заболевания применяют метод РИФ, который позволяет обнаруживать вирус в назофарингеальном отделяемом (клетках эпителия). В последние годы разработан быстрый (время анализа 15 мин) иммунохроматографический тест на слайдах для обнаружения аденовируса в кале, обладающий чувствительностью 99 % и специфичностью 91,6 %.

#### 2.2.13.1. Антитела к аденовирусам в сыворотке крови

Для обнаружения антител к аденовирусам используют РСК или ИФА.

При РСК исследование проводят в начале заболевания и через 5–7 дней, диагностическим считается нарастание титра антител не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток.

Метод ИФА отличается высокой специфичностью, но низкой чувствительностью. Как и при РСК, для использования в диагностических целях ИФА требуется сравнение уровня антител в пробах сыворотки, полученных от больных в начале и в конце заболевания.

Определение антител к аденовирусам применяется для диагностики острых респираторных вирусных инфекций, оценки напря-

женности поствакцинального иммунитета, диагностики аденовирусных инфекций.

#### 2.2.14. Респираторно-синцитиальная инфекция

Респираторно-синцитиальный вирус относится к парамиксовирусам. Заболевание характеризуется преимущественным поражением органов дыхания (бронхиты, пневмонии). Респираторно-синцитиальный вирус является важнейшим возбудителем респираторных заболеваний у детей младшего возраста и частой причиной патологии нижних отделов дыхательных путей у младенцев. До последнего времени основным методом диагностики заболевания служил метод РИФ (обнаружение вируса в назофарингеальном отделяемом). В последнее время разработан быстрый (время анализа 10 мин) и простой в использовании иммунохроматографический тест на слайдах для обнаружения вируса в назофарингеальном отделяемом, обладающий сравнимой с методом РИФ чувствительностью (85,7%), но большей специфичностью (91,7%).

##### 2.2.14.1. Антитела к респираторно-синцитиальному вирусу в сыворотке крови

Для выявления антител к респираторно-синцитиальному вирусу применяют РСК или ИФА.

При РСК исследование проводят в начале заболевания и через 5–7 дней, диагностическим считается нарастание титра антител не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток, но этот метод исследования менее чувствителен у детей в возрасте до 4 мес.

Метод ИФА отличается большей чувствительностью (от 70 до 100%). Как и при РСК, для использования в диагностических целях ИФА требуется сравнение уровня антител в пробах сыворотки, полученных от больных в начале и в конце заболевания. Повышенные значения уровня антител при однократном исследовании могут указывать на ранее перенесенную инфекцию. Повторная инфекция сопровождается повышением уровня антител при исследовании в динамике.

Определение антител к респираторно-синцитиальному вирусу применяется для диагностики острых респираторных вирусных инфекций, оценки напряженности поствакцинального иммунитета, диагностики аденовирусных инфекций.

## 2.2.15. Коксаки-инфекция

Вирусы Коксаки представлены двумя группами: группа Коксаки А включает 23 сероварианта (А1–А22,4), группа Коксаки В — 6 серовариантов (В1–В6). Вирусы Коксаки А и В вызывают у человека полимиелитоподобные заболевания, у 20–40 % больных в возрасте до 20 лет инфекция осложняется миокардитом. Имеется некоторая связь между серовариантом вируса и характером клинических проявлений инфекции. Так, вирус Коксаки А16 вызывает поражение слизистой оболочки рта, парезы конечностей, Коксаки А24 — острый геморрагический конъюнктивит, Коксаки В1–В5 — перикардиты, миокардиты и молниеносный энцефаломиокардит. Для диагностики Коксаки-инфекции используют серологические методы — РСК, РТГА, реакция нейтрализации (РН).

### 2.2.15.1. Антитела к вирусам Коксаки в сыворотке крови

При использовании РСК, РТГА, РН выявляют антитела в сыворотке крови. Исследуют парные сыворотки в острый период инфекции и через 2–3 нед. от начала болезни. В пользу инфекции свидетельствует увеличение титра антител не менее чем в 4 раза. Следует отметить, что такие изменения титра удается выявить очень редко, поэтому оценка результатов исследований вызывает большие затруднения. РСК позволяет выявить специфические антитела отдельно к каждому сероварианту вируса Коксаки В (от В1 до В6).

## 2.2.16. Инфекционная эритема

Инфекционная эритема — заболевание, вызываемое парвовирусом В19 (В19V). Эту инфекцию еще называют «пятая болезнь» в добавление к четырем хорошо известным TORCH-инфекциям (Toxoplasma, Others, Rubella, Cytomegalovirus, Herpes simplex — токсоплазменная, краснуха, цитомегаловирусная и герпетическая) или «синдром отшлепанных щек» из-за характерной сыпи. В зависимости от возраста пациента инфекционная эритема характеризуется различными симптомами — от эритематозной сыпи и лихорадки до тяжелых форм артрита и лимфаденопатии. Инфекция передается воздушно-капельным путем (инкубационный период — около 7 дней), но инфицирование может произойти при переливании крови или че-

рез плаценту от матери к плоду. Наиболее часто заболевают дети 4–11 лет, у взрослых инфекционная эритема протекает тяжело (особенно у женщин старше 30 лет). У беременных парвовирусная инфекция в I и II триместрах беременности вызывает водянку плода (в 5–10 % случаев) и приводит к выкидышам и внутриутробной гибели плода (в 9–13 % случаев). Наибольший риск развития приведенных осложнений возникает при инфицировании в период между 10-й и 26-й неделями беременности.

Диагностика парвовирусной инфекции весьма актуальна у пациентов гематологических и онкологических клиник, отделений трансплантации органов и тканей [Ягужинская О. Е. и др., 2001].

Парвовирус В19 является односпиральным ДНК-содержащим вирусом диаметром 18–24 нм, не имеющим оболочки. При инфицировании человека рецептором для парвовируса В19 служит Р-антиген, который экспрессируется на эритроцитах, эритрокарионитах, мегакарионитах, эндотелиальных клетках, клетках плаценты, печени и сердца плода. Органы и ткани, содержащие клетки с Р-рецептором, служат мишенью для парвовируса, что во многом определяет специфику клинических проявлений инфекции. Частота встречаемости Р-антигена среди коренных жителей Европы составляет 70–80 %. Репликация парвовируса В19 происходит в эритрокарионитах костного мозга в течение 21 дня. В отсутствие у человека Р-антигена инвазии и репликации вируса не происходит [Hino M. et al., 2000].

Во всех случаях инфицирования парвовирусом В19 развивается парциальная красноклеточная аплазия костного мозга. У неиммунокомпromетированных пациентов аплазия костного мозга приводит к снижению числа эритроцитов и концентрации гемоглобина в крови, ретикулоцитопении и анемии, выраженность которой зависит от степени аплазии. Обычно гематологические показатели крови нормализуются в течение 10 дней после исчезновения лихорадки, в отдельных случаях признаки анемии могут сохраняться до 4 нед. Число тромбоцитов, лимфоцитов и гранулоцитов также снижается. В дальнейшем анемия полностью компенсируется за счет выработки новых эритроцитов. После перенесенной инфекции формируется стойкий пожизненный иммунитет, обусловленный антителами класса IgG. У лиц с иммунодефицитом, вне зависимости от его причины, наиболее часто отмечается персистенция вируса (посто-

инное присутствие ДНК вируса в тканях или крови), так как синтез антител к вирусу В19 у них нарушен.

Для диагностики парвовирусной инфекции определяют ДНК вируса В19 методом ПЦР, а также антитела классов IgM и IgG в сыворотке крови методом ИФА.

### 2.2.16.1. Антитела к парвовирусу В19 в сыворотке крови

Антитела IgM выявляют у 90 % больных через 4–7 дней после клинических проявлений заболевания. Уровень антител постепенно нарастает, достигая максимума к 4–5-й неделе, а затем снижается. Антитела IgM могут сохраняться в крови в течение 4–6 мес. после перенесенного заболевания. Обнаружение антител IgM к парвовирусу В19 в сыворотке крови в острый период заболевания, а тем более нарастание титра антител (как и их снижение в ранние сроки после перенесенной инфекции) при исследовании парных сывороток подтверждают диагноз инфекционной эритемы (чувствитель-

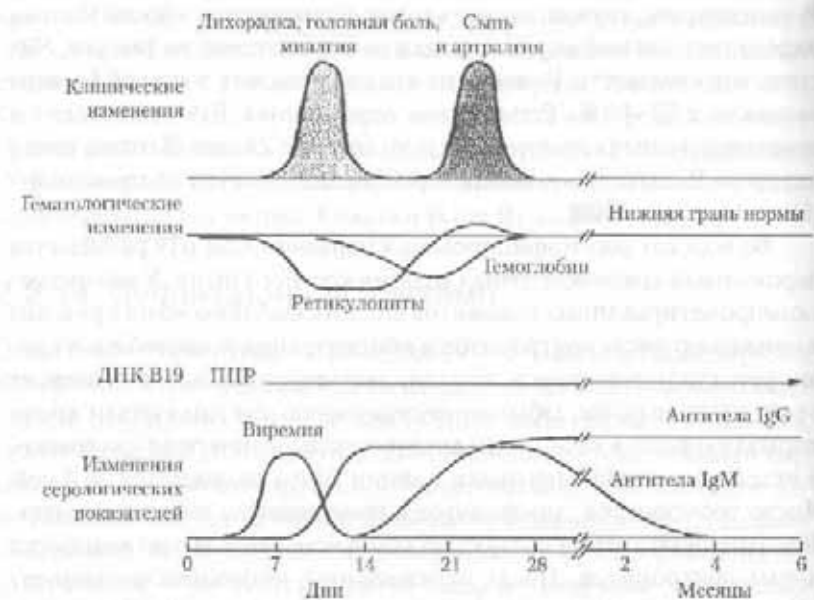


Рис. 2.14. Динамика клинической картины инфекционной эритемы, появления ДНК парвовируса и антител в крови

ность — 97,6 %, специфичность — 97 %). Беременным женщинам, подверженным риску инфицирования парвовирусом В19, показано периодическое исследование крови на антитела IgM и уровень АФП, а также проведение ультразвукового сканирования с целью своевременного выявления водянки плода.

Антитела IgG обнаруживают в крови через 7–10 дней после появления симптомов заболевания, уровень их достигает максимума через 4–5 нед. и остается повышенным в течение многих лет. При исследовании антител IgG только нарастание титра антител не менее чем в 4 раза свидетельствует в пользу парвовирусной инфекции (диагностическая чувствительность — 94 %, специфичность — 86 %), так как у 50–70 % взрослого здорового населения можно выявить антитела этого класса. Присутствие антител IgG указывает на наличие иммунитета к инфекции. При использовании в диагностических наборах рекомбинантного VP2 капсидного антигена диагностическая чувствительность определения антител IgG составляет 98,9 %, специфичность — 100 %.

Динамика клинической картины инфекционной эритемы, появления ДНК парвовируса В19 и антител в крови представлена на рис. 2.14.

### 2.2.17. Медленные инфекции

Термин «медленные инфекции» был введен В. Sigurdsson в 1954 г. для описания инфекционных заболеваний, характеризующихся пятью основными признаками:

- 1) длительный инкубационный период (месяцы, годы, десятилетия);
- 2) продолжительное и медленно прогрессирующее течение;
- 3) необычность поражения органов и тканей;
- 4) ограниченный круг хозяев;
- 5) неизбежный летальный исход.

В настоящее время группа медленных инфекций человека и животных включает в себя около 40 нозологических форм. Однако в литературе принято считать, что возбудителями медленных инфекций являются агенты, способные вызвать развитие подострых, прогрессирующих поражений ЦНС. В настоящее время накоплен большой фактический материал, свидетельствующий о вирусной

природе многих медленных инфекций (конвенционные инфекции). Наиболее частыми возбудителями медленных инфекций являются представители семейства ретровирусов, включающих ВИЧ. Вирус кори в 1 случае на 1 млн заболевших вызывает тяжелую медленную инфекцию у детей и подростков — подострый склерозирующий панэнцефалит, обычно заканчивающийся летальным исходом. Вирусы краснухи и герпеса вызывают прогрессирующую врожденную краснуху и подострый герпетический энцефалит. Методы диагностики этих вирусных инфекций приведены выше.

В последние годы удалось установить роль безнуклеидных агентов, вызывающих медленные инфекции (неконвенционные инфекции). Такими агентами, обладающими инфекционными свойствами, оказались низкомолекулярные белки (молекулярная масса 27 000–30 000 Да) — прионы (*prion* — анаграмма английских слов: proteinaceous infection protein). В их состав входит идентифицированный белок PrP<sup>sc</sup>, кодируемый в геноме клеток теплокровных. Прионы по своим физико-химическим свойствам резко отличаются от вирусов, бактерий и грибов. Они устойчивы к 30-минутному кипячению, действию формальдегида, пепсина, трипсина, ДНКазе и многим другим ферментам, ультрафиолетовому облучению, ионизирующей радиации, ультразвуку.

Прионовые заболевания человека объединены в группу трансмиссивных спонгиозоформных (губчатых) энцефалопатий, характеризующихся дегенеративными изменениями головного и спинного мозга. У людей прионы вызывают нейродегенеративные заболевания: куру, спорадическая болезнь Крейтцфельда—Якоба, синдром Герстманна—Штраусслера—Шайнкера, фатальную семейную бессонницу, амиотрофический лейкоспонгиоз, спонгиозоформную энцефалопатию крупного рогатого скота. Патоморфологические изменения при перечисленных заболеваниях характеризуются ярко выраженными дегенеративными процессами без признаков воспаления в ЦНС. При этом характерна картина так называемого губкообразного состояния серого и белого вещества головного мозга, а иногда и спинного мозга, с последующим образованием амилоидных включений в нервных тканях.

Механизмы репликации прионов во многом остаются неизвестными; предположительно, они служат матрицей кристаллизации белков и их аккумуляция вызывает гибель нейронов. Патогенез



прионовых инфекций можно представить следующим образом. В геноме человека содержится ген Prn<sup>P</sup>, с которого считывается информация о клеточном неинфекционном прионовом белке. Нормальный клеточный белок обозначают буквами PrP<sup>c</sup> (cellular), он состоит из 209 аминокислот и считывается только с одного гена. Исследования показали, что в здоровой ткани мозга обязательно присутствует нормальный белок (молекулярная масса 33 000—35 000 Да), а в зараженной — одновременно обнаруживают два прионовых белка: один нормальный, другой — инфекционный PrP<sup>Sc</sup> (молекулярная масса 27 000—30 000 Да). Возможны три варианта появления инфекционного белка в организме человека. В первом случае в здоровый организм может попасть чужеродный инфекционный белок (например, с мясом коровы, больной спонгиозной энцефалопатией крупного рогатого скота), который захватывается и переносится в организме человека макрофагами. Тогда инфекционный белок, обладая свойствами шаперона (белки, всегда присутствующие в клетках и способные изменять конформацию других белков для их переноса через мембраны органоидов), может изменить конформацию нормального клеточного прионового белка и преобразовать его в инфекционную форму. В другом случае инфекционный белок образуется в организме человека в результате мутаций в самом гене PRNP (локализован в локусе 20p12p), что приводит к синтезу патологических прионов [Иллариошкин С. Н., 2002]. В третьем — около 10–15 % случаев прионовых болезней имеют наследственный характер. Причиной familialной болезни Крейтцфельда—Якоба, синдрома Герстманна—Штраусслера—Шайнкера, фатальной familialной бессонницы, считают ауто-сомно-доминантную PRNP-мутацию [Armstrong D., Cohen J., 1999].

Для диагностики прионовых инфекций до последнего времени использовали метод внутримозгового заражения мышат-сосунков или хомячков, электронную микроскопию и иммуногистохимическое исследование биоптатов мозга или миндалин. В настоящее время активно разрабатываются методы ДНК-диагностики прионовых инфекций и наследственных мутаций.

## 2.2.18. Синдром хронической усталости

Синдром хронической усталости — заболевание, характеризующееся легко возникающей усталостью, которая не проходит после от-

дыха. В 1988 г. Центром по контролю заболеваемости (The Center for Disease Control, Атланта, США) были сформулированы диагностические критерии (большие и малые) синдрома хронической усталости [Holms G. P. et al., 1988].

К большим (обязательным) диагностическим критериям относят:

- постоянную усталость и снижение работоспособности на 50 % и более у ранее здоровых людей длительностью не менее 6 мес.;
- отсутствие соматических заболеваний или других причин, которые могут вызывать такое состояние.

В связи с этим постановка диагноза требует исключения злокачественных новообразований, аутоиммунных болезней, инфекций, нейромышечных и эндокринных заболеваний, заболеваний сердца, легких, почек, ЖКТ, печени и крови [Новик А. А. и др., 2001].

Малые критерии объединены в несколько групп и включают:

- симптомы хронического инфекционного процесса;
- психические нарушения;
- вегетативно-эндокринную дисфункцию;
- аллергию и повышенную чувствительность к различным экзогенным факторам (лекарства, солнечный свет, алкоголь и др.).

Вероятнее всего, синдром вызывается вирусом хронической усталости или разными другими вирусами (ЦМВ, вирусы Эпштейна—Барр, герпеса, Коксаки, кори и др.). Наиболее часто встречается у женщин в возрасте 20–50 лет.

При лабораторных исследованиях в сыворотке крови определяется повышенный уровень антител к вирусам Эпштейна—Барр, простого герпеса, Коксаки, кори, ЦМВ и другим на фоне дефицита IgG. Кроме того, можно обнаружить повышенный уровень аутоантител к гладким мышцам и ткани желудка, антинуклеарный и ревматоидный факторы, ЦИК. Характерной особенностью синдрома являются разнообразные нарушения иммунного статуса, которые коррелируют с тяжестью основного процесса. В крови выявляется резкое изменение соотношения CD4/CD8 за счет снижения CD8-лимфоцитов и функциональной активности Т-лимфоцитов (по данным РБТЛ с ФГА).

В последнее время получены данные о том, что значительная часть больных с синдромом хронической усталости дает положи-

тельный ответ на противогрибковую терапию и диету, препятствующую избыточному росту грибов рода *Candida*. Возможный механизм эффекта такого лечения обусловлен тем, что *Candida albicans* подавляет функцию Т-лимфоцитов слизистых оболочек, как и вирусы герпеса, Эпштейна—Барр и ЦМВ при синдроме хронической усталости.

### 2.3. ДИАГНОСТИКА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Бактерии — микроскопические, обычно одноклеточные организмы растительной природы (отсюда название — микрофлора). Инфекции, вызванные бактериями, относятся к наиболее распространенным заболеваниям человека. Клиническим, микробиологическим и серологическим исследованиям принадлежит важная роль в диагностике бактериальных инфекций. Наиболее часто бактерии являются возбудителями гнойно-воспалительных заболеваний человека. На рис. 2.15 представлен спектр бактериальных возбудителей пневмонии в зависимости от возраста [Marik P. E., 2001].

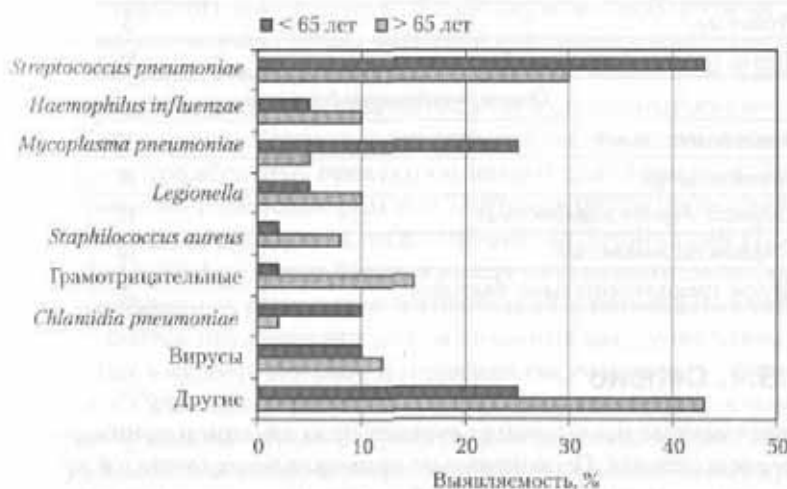


Рис. 2.15. Спектр бактериальных возбудителей пневмонии в зависимости от возраста

Спектр микроорганизмов и частота их обнаружения у иммунокомпрометированных пациентов с сепсисом приведены в табл. 2.17 [Matik P. E., 2001].

Таблица 2.17

**Спектр микроорганизмов и частота их обнаружения у иммунокомпрометированных пациентов с сепсисом**

Категория бактерий	Частота выявления, %
Грамотрицательные	25
Грамположительные	25
Микст грамотрицательные/грамположительные	20
Грибы	3
Анаэробы	2
Неизвестные	25
<i>Грамотрицательные бактерии</i>	
<i>Escherichia coli</i>	25
<i>Klebsiella/Citrobacter</i>	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15
<i>Enterobacter spp.</i>	10
<i>Proteus spp.</i>	5
Другие грамотрицательные бактерии	25
<i>Грамположительные бактерии</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	35
<i>Enterococcus spp.</i>	20
<i>Coagulase-negative staphylococcus</i>	15
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10
Другие грамположительные бактерии	20

### 2.3.1. Сепсис

Современные исследования существенно изменили понимание патогенеза сепсиса. Первоначально внимание исследователей при изучении патофизиологии сепсиса было сконцентрировано на влиянии бактерий и их продуктов на разнообразные гуморальные системы, в том числе систему комплемента, свертывающую и противосвер-

тывающую системы. В последние годы основной акцент сместился на выяснение роли не только бактериальных продуктов в активации различных видов клеток (макрофагов, полиморфно-ядерных нейтрофилов, тромбоцитов, эндотелиальных клеток и др.), но и механизмов секреции активированными клетками разнообразных цитокинов и действия этих цитокинов на клетки человека.

Эндоксемия и бактериемия всегда приводят к развитию системного воспалительного ответа, при котором происходит увеличение синтеза и секреции разнообразных цитокинов, направленных на стимуляцию основных защитных систем организма. Если при нормальном течении инфекционного процесса подобные молекулярные реакции можно расценивать как реакции приспособления или адаптации, то во время сепсиса в силу ряда причин их активность имеет повреждающий характер.

Синдром системного воспалительного ответа (ССВО) как универсальная реакция организма на инфекцию может протекать в трех вариантах.

*Первый вариант ССВО* характеризуется локальной продукцией цитокинов в ответ на инфекцию, которые выполняют ряд защитных функций, участвуя в заживлении ран и защите клеток организма от патогенных микроорганизмов. В ряде случаев такого количества цитокинов достаточно, чтобы организм справился с инфекцией и произошло выздоровление. *Второй вариант ССВО* сопровождается выбросом малого количества цитокинов в системный кровоток. Однако даже малое количество цитокинов способно активировать макрофаги, тромбоциты, продукцию целого ряда гормонов. Развивающаяся острофазовая реакция контролируется провоспалительными медиаторами и их эндогенными антагонистами (IL-1, IL-10, IL-13, TNF). За счет баланса между цитокинами, антагонистами медиаторных рецепторов и антителами в нормальных условиях создаются предпосылки для заживления ран, уничтожения патогенных микроорганизмов и поддержания гомеостаза. *Третий вариант ССВО* характеризуется генерализацией воспалительной реакции. В данном случае регулирующие системы не способны поддерживать гомеостаз, в результате чего начинают доминировать деструктивные эффекты цитокинов и других медиаторов, что способствует нарушению проницаемости и функции эндотелия капилляров, формированию отдаленных очагов системного воспа-

ления, развитию моно- и полиорганной недостаточности. Именно третий вариант ССВО и имеет место при сепсисе.

В системном воспалительном ответе при сепсисе можно условно выделить несколько основных патогенетических механизмов:

- 1) медиаторный, в развитии которого ведущую роль играют эндотелий и цитокины, а также аутоиммунное поражение органов и тканей;
- 2) микроциркуляторный и связанный с ним реперфузионный механизмы;
- 3) инфекционно-септический механизм, в основе которого лежит кишечная недостаточность — важнейший компонент порочного круга при сепсисе, поскольку транслокация бактерий и их токсинов поддерживает воспалительную реакцию, усугубляя нарушения обмена веществ (с ней связывают гипотезу — «кишечник как недренированный абсцесс»).

Приведенные механизмы действуют в совокупности, хотя каждый из них может преобладать на разных этапах развития сепсиса.

Современные представления о патогенезе сепсиса основываются на цитокиновой теории [Шляпников С. А. и др., 1997; Lowry S. F. et al., 1993]. Цитокинам отводится ведущая роль в развертывании медиаторного механизма сепсиса.

В качестве основных цитокинов, опосредующих действие экзо- и эндотоксина бактерий на организм человека при сепсисе, выступают TNF- $\alpha$ , IL-1, фактор активации тромбоцитов и др. Участие медиаторного механизма в патогенезе сепсиса можно представить в виде следующих положений [Руднов В. А., 1997; Серов В. Н. и др., 2000; Giroir B. P., Beutler B., 1992].

1. Инфект, экзо-, эндотоксин служат факторами, инициирующими в тканях организма сложный комплекс иммуновоспалительных реакций — септический каскад. Центральная роль эндотоксина грамотрицательных бактерий связана с его способностью стимулировать различные аспекты воспалительного ответа. В частности, он активирует комплемент, нейтрофилы и мононуклеарные фагоциты. Грамположительные бактерии не содержат в своей клеточной стенке эндотоксин и вызывают септические реакции через другие механизмы.

2. Сепсис представляет, в сущности, системный ответ на инфект, заключающийся в неконтролируемом выбросе из макрофагов,

лимфоцитов и эндотелия целого комплекса медиаторов, важнейшими из которых являются цитокины. Считается, что ведущую роль в развитии генерализованного воспалительного каскада при сепсисе играют такие цитокины, как TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8.

Механизм формирования септического ответа, инициированного эндотоксином, состоит из трех фаз.

*I фаза — индукция сепсиса*, результатом которой является синтез целого ряда гуморальных факторов, запускающих реакцию системного воспалительного ответа.

Помимо эндотоксина грамотрицательных бактерий в индукции сепсиса важная роль отводится специфическим участкам мембраны бактерий, которые способны активировать различные типы клеток. Так, липид А, эстерифицированный глюкозамин, совместно с пирофосфатами и жирными кислотами, связанными с эфирными и амидными группами, формируют часть липополисахаридной (LPS) клеточной мембраны. При связывании этого липополисахарида с LPS-связывающим белком образуется комплекс в 1000 раз активнее эндотоксина. Этот комплекс может также индуцировать активацию полиморфно-нуклеарных лейкоцитов и макрофагов, которые высвобождают различные воспалительные медиаторы и цитокины, адгезивные молекулы к клеточной мембране, токсичные радикалы кислорода, продукты метаболизма арахидоновой кислоты и NO. Наконец, LPS способен активировать системы коагуляции и фибринолиза.

Грамположительные бактерии имеют LPS-капсулу, их клеточная стенка содержит фосфолипидную мембрану, окруженную слоем пептидогликанов. Предшественники пептидогликанов и другие компоненты клеточной стенки (токсины) грамположительных бактерий способны стимулировать продукцию воспалительных цитокинов. Одним из основных механизмов, за счет которого токсины грамположительных бактерий активируют моноциты, лимфоциты, полиморфно-нуклеарные лейкоциты, тромбоциты и другие клетки, является увеличение проницаемости клеточной мембраны под их воздействием. Изменение проницаемости клеточных мембран может вести к трансмембранному потоку низкомолекулярных веществ и макроионов, которые вызывают нарушение функции клеток.

*II фаза — септический каскад*, заключающийся в секреции цитокинов и воздействии цитокинов на органы-мишени с последую-

шим вторичным выделением этих медиаторов. Кроме цитокинового каскада активируются калликреин-кининовая система, система арахидоновой кислоты, свертывающая система крови и др. Взаимодействие эндогенных медиаторов воспаления с различными клетками макроорганизма приводит к тяжелым системным расстройствам с формированием в конечном счете полиорганной недостаточности, которая является основной причиной летальности при сепсисе.

*III фаза — вторичная агрессия* — предельно выраженная органный дисфункция и стабильный катаболизм, при которых организм больного теряет способность к самостоятельной регуляции гомеостаза.

3. Последующее течение заболевания и прогноз определяются концентрацией эндотоксина, отдельных цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6) в тканях и кровотоке, состоянием механизмов, контролирующих их освобождение, а также тяжестью возникших органных повреждений.

4. Медиаторами септического воспалительного ответа помимо цитокинов являются: компоненты комплемента, продукты метаболизма арахидоновой кислоты, фактор активации тромбоцитов, серотонин, гистамин, NO, активные формы кислорода и гидроперекиси, кинин-калликреиновая и свертывающая системы, энзимы (протеазы, лизосомальные ферменты), гормональные пептиды (тироксин, гормон роста, инсулин, глюкагон).

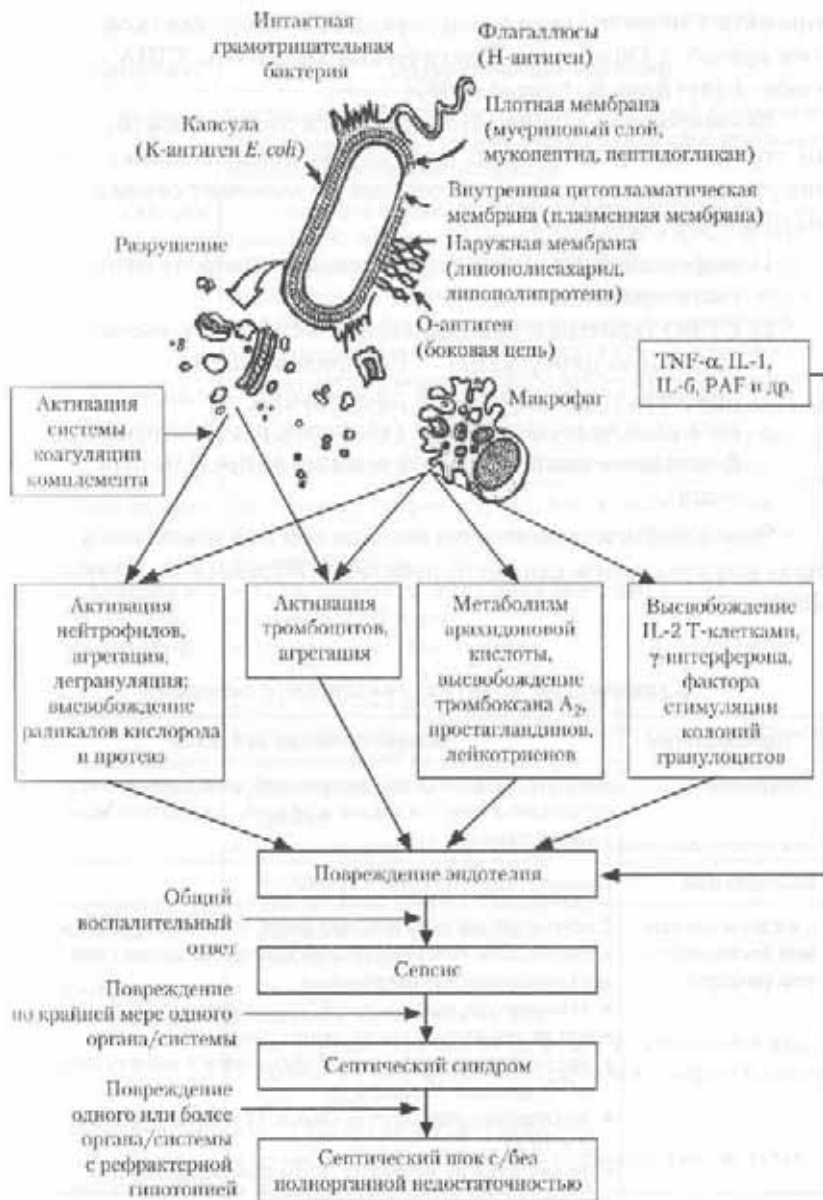
В целом патогенез сепсиса при участии грамотрицательной флоры представлен на рис. 2.16.

При сепсисе, когда медиаторы образуются в избытке или когда используются необычные пути их продукции и действия, эти реакции становятся нерегулируемыми и запускается целый комплекс патологических реакций [Зильбер А. П., 1996]:

- происходит не просто усиление метаболизма с увеличением продукции энергии, а «самосжигание» организма;
- развивается не воспалительная реакция, локализирующая инфекцию, а капиллярная утечка жидкости с интерстициальным отеком;
- происходит не стимуляция регенерации и заживления, а деструкция тканей.

Современное понимание патогенеза сепсиса потребовало употребления новой стандартизованной терминологии, которая была





**Рис. 2.16.** Патогенез грамотрицательного сепсиса

принята Согласительной конференцией Американской коллегии врачей и Обществом критической медицины США в 1991 г. (табл. 2.18) [Bone R. C. et al., 1992].

Формирование нового взгляда на патогенез сепсиса отразилось не только на терминологии, но и на диагностических критериях постановки диагноза. Диагноз сепсиса не вызывает сомнений при наличии трех критериев:

- 1) инфекционного очага, определяющего природу патологического процесса;
- 2) ССВО (критерий проникновения медиаторов воспаления в системную циркуляцию — см. приложение 3);
- 3) признаков организменной дисфункции — синдрома полиорганной недостаточности (критерий распространения инфекционно-воспалительной реакции за пределы первичного очага).

Этот алгоритм должен служить основой для постановки диагноза «сепсис» в повседневной практике [Журавлев В., Руднов В., 2000].

Таблица 2.18

## Клинические понятия, связанные с сепсисом

Терминология	Диагностические признаки
Инфекция	Воспалительный ответ, вызванный появлением микроорганизмов путем инвазии в обычно интактные ткани макроорганизма
Бактериемия	Присутствие бактерий в крови
Синдром системной воспалительной реакции	Системный воспалительный ответ отличается тяжелым клиническим течением. Характеризуется двумя (или более) следующими признаками: <ul style="list-style-type: none"> <li>• температура тела выше 38 °С или ниже 36 °С</li> <li>• число сердечных сокращений свыше 90 уд./мин</li> <li>• частота дыхания свыше 20 дыханий в 1 минуту или рСО<sub>2</sub> меньше 32 мм рт. ст.</li> <li>• количество лейкоцитов свыше <math>12 \times 10^9/\text{л}</math> или ниже <math>4 \times 10^9/\text{л}</math></li> <li>• количество их незрелых форм превышает 10 %</li> </ul>
Сепсис	Наличие клинических признаков системной воспалительной реакции при явном инфекционном процессе

Терминология	Диагностические признаки
Сепсис-синдром	Состояние, при котором на фоне прогрессирующего сепсиса развиваются органичные нарушения, корригируемые с помощью интенсивной терапии
Септический шок	Сепсис с гипотензией (снижение систолического АД до уровня < 90 мм рт. ст. у «нормотоников» или более чем на 40 мм рт. ст. от «рабочего» АД у лиц с артериальной гипертензией), развивающейся несмотря на адекватную инфузионную терапию, и нарушением тканевой перфузии, которая может сопровождаться (но не ограничиваться) лактацидозом, олигурией и острыми нарушениями психического статуса. У пациентов, находящихся на инотропной поддержке, гипотонии может и не быть в то время, когда регистрируют нарушения перфузии
Синдром полиорганной недостаточности:	Присутствует острое повреждение функций органов и систем, при этом гомеостаз не может быть сохранен без вмешательства:
<ul style="list-style-type: none"> <li>• дисфункция в системе гемостаза (коагулопатия потребления)</li> <li>• острый респираторный дистресс-синдром</li> <li>• почечная дисфункция</li> <li>• печеночная дисфункция</li> <li>• дисфункция ЦНС, гастроинтестинальная недостаточность</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ПДФ (продукты деградации фибрина) &gt; 1:40</li> <li>• D-димер &gt; 2 норм</li> <li>• тромбоциты &lt; <math>150,0 \times 10^9/\text{л}</math></li> <li>• фибриноген &lt; 2 г/л</li> <li>• <math>pO_2</math> в артериальной крови &lt; 71 мм рт. ст.</li> <li>• отношение <math>pO_2</math> к содержанию кислорода во вдыхаемом воздухе (<math>pO_2/FiO_2</math>) &lt; 175</li> <li>• билатеральные легочные инфильтраты на рентгенограмме</li> <li>• необходимость ИВЛ с положительным давлением конца выдоха &gt; 5 см вод. ст.</li> <li>• креатинин в крови &gt; 176 мкмоль/л</li> <li>• натрий в моче &lt; 40 ммоль/л</li> <li>• диурез &lt; 30 мл/ч</li> <li>• билирубин в крови &gt; 34 мкмоль/л</li> <li>• натрий в моче &lt; 40 ммоль/л</li> <li>• увеличение активности АСТ, АЛТ или щелочной фосфатазы в 2 раза и более по сравнению с верхней границей нормы</li> <li>• &lt; 15 баллов по шкале Глазго</li> <li>• кровотечение из острых язв («стресс-язвы») желудка</li> <li>• илеус длительностью более 3 сут</li> <li>• диарея (жидкий стул более 4 раз в сутки)</li> </ul>

Среди методов серологической диагностики сепсиса особое место занимает определение концентрации эндотоксина грамотрицательных бактерий, правильнее сказать уровня липосахарида, определяемого с помощью лизата амебоцитов сухопутного краба *Limulus Polyphemus* (ЛАЛ-тест). Особое место ЛАЛ-теста обусловлено тем, что устанавливается не конкретный этиологический возбудитель сепсиса, а лишь факт наличия грамотрицательных бактерий в крови (бактериемии). Кроме того, тест позволяет получить результат анализа в течение короткого времени. В настоящее время разработан микрометод ЛАЛ-теста, что значительно снизило его стоимость.

### 2.3.1.1. ЛАЛ-тест

**У здорового человека эндотоксин грамотрицательных бактерий в плазме крови и других биологических жидкостях не обнаруживается.**

Наличие даже небольших концентраций липосахарида (около 10 нг/л) грамотрицательных бактерий в плазме крови свидетельствует о сепсисе [Костюченко А. Л. и др., 2000]. Обладая высокой чувствительностью и специфичностью по отношению к эндотоксину грамотрицательных бактерий, ЛАЛ-тест хотя и не дает возможности идентифицировать конкретного возбудителя заболевания, однако позволяет выявлять наличие или отсутствие бактерий или их токсинов в биологических жидкостях организма человека. Результаты применения ЛАЛ-теста для диагностики бактериемии у послеоперационных больных показали хорошую корреляцию с ростом посевов гемокультуры — 75 % для положительных и 98 % для отрицательных гемокультур. S. I. H. van Deventer и соавт. [1988] нашли, что повышенная концентрация эндотоксина в плазме крови — лучший индикатор грамотрицательного сепсиса, чем положительная гемокультура. Определение концентрации липосахарида бактерий может быть использовано для прогноза исхода сепсиса. Нарастание уровня эндотоксина в плазме — плохой прогностический показатель.

В последние годы многие клинические школы стали более критически относиться к использованию результатов ЛАЛ-теста в клинической практике. Это обусловлено тем, что наличие эндотоксина является достаточным, но не обязательным условием индуцирования системной воспалительной реакции, так как в этой роли могут

выступать другие факторы. Кроме того, абсолютные концентрации эндотоксина не всегда могут правильно отражать тяжесть грамотрицательного сепсиса. Это обусловлено тем, что эндотоксины различных грамотрицательных бактерий имеют разную активность по отношению к лизату амёбоцитов *Limulus* и не всегда коррелируют с биологическим действием этих токсинов. Вследствие этого результаты ЛАЛ-теста при клинической оценке нередко вызывают сомнения.

Вместе с тем ЛАЛ-тест обладает и рядом достоинств. Он может быть использован как быстрый и надёжный метод для раннего обнаружения эндотоксина в крови у пациентов с подозрением на сепсис, а также для мониторинга больных с сепсисом.

ЛАЛ-тест используют для выявления возбудителя гонореи в цервикальных и уретральных экссудатах, а также для контроля качества (стерильности) лекарств, вводимых больному парентерально.

Алгоритм диагностики сепсиса представлен на схеме 2.8.

### 2.3.2. Инфекции, вызываемые стрептококками А, В, С, D, F, G

Стрептококки относятся к самым распространённым возбудителям бактериальных инфекций у человека. На основании антигенных различий большая часть стрептококков, выделенных от человека, относятся к группам А, В, С, D, F, G.

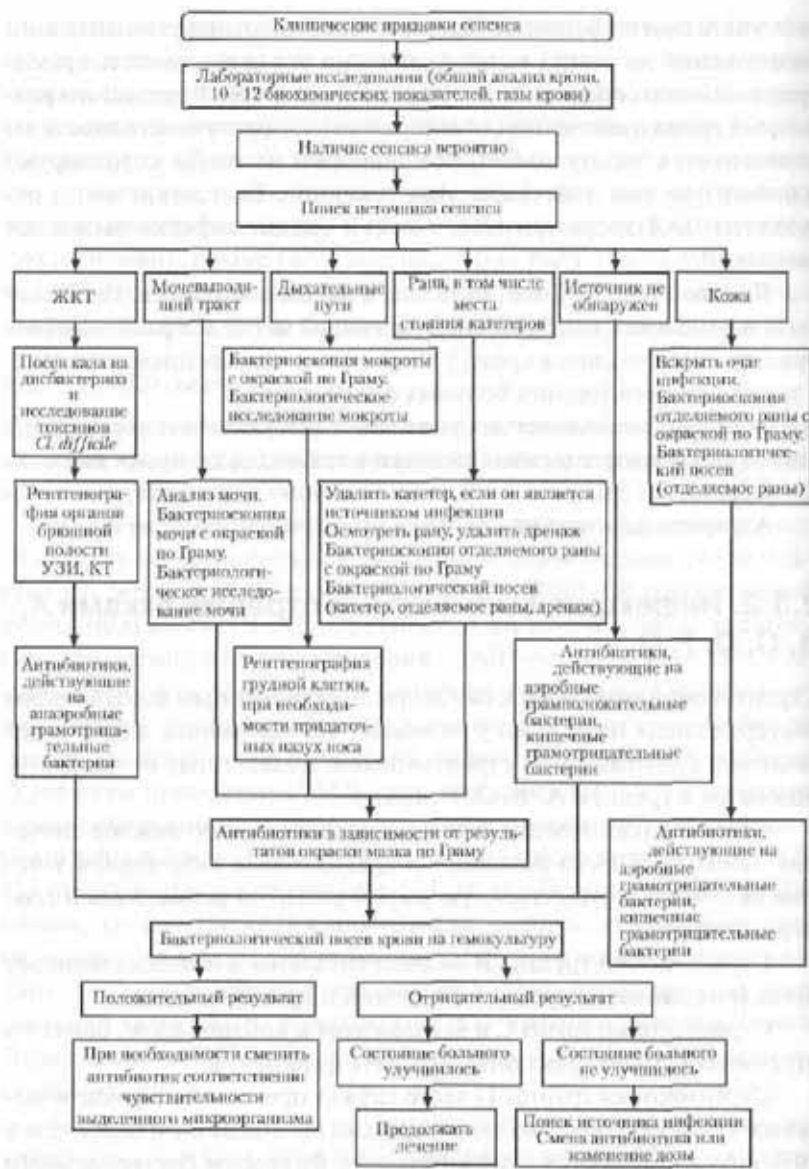
Стрептококки группы А имеют исключительно важное значение, поскольку часто вызывают инфекционные заболевания у человека и играют существенную роль в развитии ревматизма и гломерулонефрита.

Стрептококки группы В обычно гнездятся в женских половых путях и на слизистых оболочках глотки и прямой кишки.

Стрептококки групп С и G относятся к комменсалам, однако в отдельных случаях способны вызывать фарингиты.

Стрептококки группы D часто служат причиной инфекции мочевых путей у больных со структурными аномалиями и более чем в 10 % случаев являются этиологическим фактором бактериального эндокардита [Биргер М. О., 1982].

Основным методом диагностики стрептококковой инфекции является бактериологический. В последнее время разработаны слай-



**Схема 2.8.** Алгоритм обследования больных с подозрением на сепсис

довые экспресс-тесты (ответ можно получить в течение 10 мин) на основе метода иммунохроматографии (чувствительность — 97 %, специфичность — 95 %), которые позволяют выявлять антиген  $\beta$ -гемолитического стрептококка группы А в смывах из носоглотки и  $\beta$ -гемолитические стрептококки группы В в отделяемом из влагалища. Серологическая диагностика основана на выявлении титра антител к полисахариду стрептококка группы А методом ИФА, а также стрептолизину-О, гиалуронидазе, дезоксирибонуклеазе В (см. соответствующие разделы гл. 1) в сыворотке больного.

### 2.3.2.1. Антитела к стрептококкам А, В, С, D, F, G в сыворотке крови

**Титр антител к стрептококку в сыворотке крови в норме 12–166 ЕД.**

Антитела к полисахариду стрептококка группы А (group-specific polysaccharide — anti-A-СНО) появляются в 1-ю неделю инфекции, их титр быстро нарастает, достигая пика к 3–4-й неделе заболевания. Диагностическим считается нарастание титра антител через 10–14 сут не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток. Следует иметь в виду, что даже активная стрептококковая инфекция вызывает повышение титра антител в 4 раза только у 70–80 % пациентов. Тест на антитела к полисахариду стрептококка группы А обычно используется как дополнение к АСЛО и определению антител к дезоксирибонуклеазе В у пациентов с ревматической лихорадкой. Имеется высокоспецифическая корреляция между постоянным уровнем anti-A-СНО в сыворотке крови и активностью ревматического кардита. При эффективном лечении уровень anti-A-СНО снижается на несколько месяцев позже других маркеров стрептококковой инфекции.

Для диагностики стрептококковой инфекции, вызываемой другими группами стрептококков, используют метод ИФА, который позволяет выявлять специфические антитела к углеводам стенки бактерий, в основном групп С и G. Однако эти исследования не получили широкого распространения.

Изменение титра антител к стрептококкам при различных заболеваниях представлено в табл. 2.19, а на рис. 2.17 показана типичная динамика титра антител к стрептококкам группы А (полисахариду, стрептолизину-О, гиалуронидазе, дезоксирибонуклеазе В) в сыворотке крови при острой инфекции.

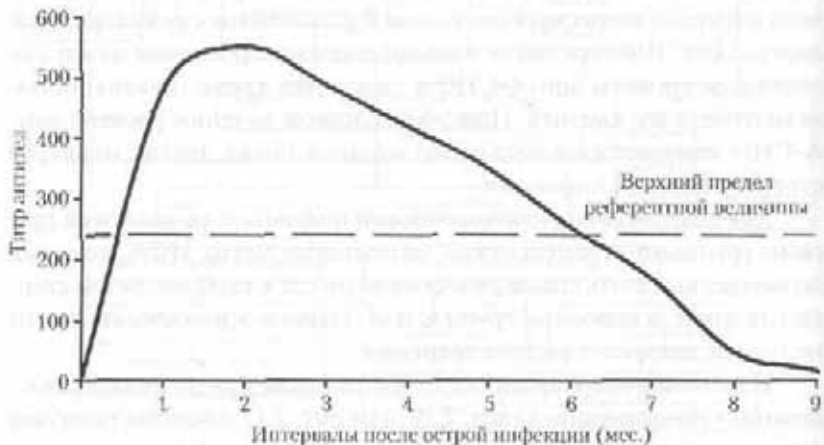
Таблица 2.19

**Титр антител к стрептококкам при различных заболеваниях**  
 [Wallach J. M. D., 1996]

Заболевание	Титр антител, ЕД
Активная ревматическая лихорадка	500–5000
Неактивная ревматическая лихорадка	12–250
Ревматоидный артрит	12–250
Острый гломерулонефрит	500–5000
Стрептококковая инфекция верхних дыхательных путей	100–333
Коллагенозы	12–250

Определение антител к стрептококкам применяется для диагностики стрептококковой инфекции при следующих заболеваниях:

- катаральная, лакунарная, фолликулярная ангина;
- рожистое воспаление, скарлатина, гломерулонефрит, ревматизм;
- септические состояния;
- хронические воспалительные заболевания легких.



**Рис. 2.17.** Типичная динамика титра антител к стрептококкам группы А при острой инфекции



### 2.3.3. Инфекции, вызываемые стафилококками

Стафилококк — один из наиболее часто встречающихся микроорганизмов, который у человека чаще всего вызывает гнойные заболевания и осложнения при соматических и хирургических заболеваниях. Ведущим методом диагностики заболеваний, вызываемых стафилококком, является бактериологический. Серологическая диагностика направлена на выявление титра антител к стафилококкам в сыворотке крови больного.

#### 2.3.3.1. Антитела к стафилококкам в сыворотке крови

Из серологических методов диагностики гнойно-септических заболеваний применяют РПГА и ИФА. Диагностическим считается нарастание титра антител через 7–10 сут при исследовании парных сывороток. Однократное исследование диагностического значения не имеет, так как практически у 100 % взрослых в сыворотке определяются антитела к стафилококкам.

Определение антител к стафилококкам применяется для диагностики гнойно-септических процессов, вызванных золотистым стафилококком при:

- воспалительных заболеваниях легких;
- флегмонах, абсцессах, фурункулезе, ангине;
- перитоните, сепсисе, пиелонефрите;
- стафилококковых пищевых отравлениях.

### 2.3.4. Инфекции, вызываемые пневмококками

Пневмококк (*Streptococcus pneumoniae*) чаще всего является возбудителем пневмонии. У маленьких детей он может вызывать менингит, а у взрослых изредка — сепсис. Лабораторная диагностика пневмококковых инфекций базируется, в основном, на бактериоскопическом (обнаружение в мазках окрашенных по Граму и Романовскому—Гимзе грамположительных диплококков с капсулой более 10 пар в поле зрения) и бактериологическом (культуральный рост пневмококков в разведении  $10^5$  мкл/мл и выше) исследованиях, серологическая диагностика играет вспомогательную роль.

### 2.3.4.1. Антитела к пневмококку в сыворотке крови

Серологическая диагностика направлена на выявление титра антикапсулярных антител в сыворотке крови больного. Диагностическим считается нарастание титра антител через 7–10 сут при исследовании парных сывороток. Определение антител к пневмококку применяется для диагностики пневмококковой инфекции при воспалительных заболеваниях легких, серозных и гнойных менингитах.

Методы РИА и ИФА могут быть использованы для подбора пациентов к вакцинации против *Streptococcus pneumoniae* и оценки ее эффективности.

### 2.3.5. Инфекции, вызываемые гемофильной палочкой

Палочка инфлюэнцы инфицирует только людей и локализуется, прежде всего, в верхних дыхательных путях. За последние 30–45 лет заболеваемость системными формами инфекции, вызываемой палочкой инфлюэнцы типа b, увеличилась в 4 раза, причем чаще стали распознаваться случаи поражения у взрослых. Выделение палочки инфлюэнцы при бактериологических посевах из носоглотки диагностического значения не имеет ввиду широкого распространения носительства палочки среди здоровых людей (у 90%). Для диагностики инфекции исследуют кровь, мочу, жидкость из плевры, суставов, СМЖ и др.

#### 2.3.5.1. Антитела к гемофильной палочке в сыворотке крови

Для серологической диагностики заболеваний, вызванных палочкой инфлюэнцы, используют реакции агглютинации и преципитации. Определение антител к гемофильной палочке в сыворотке крови является ретроспективным методом диагностики заболевания, так как необходимо исследовать сыворотку в 1-ю неделю заболевания и через 10–14 сут. Диагностическим считается нарастание титра антител через 10–14 сут не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток.

Определение антител к гемофильной палочке применяется для диагностики инфекций при:

- хронических гнойных воспалительных заболеваниях легких (бронхоэктатическая болезнь, абсцесс легкого, пневмония);

- менингитах;
- септических артритов, целлюлитах, эпиглотите.

Методы РИА и ИФА могут быть использованы для подбора пациентов к вакцинации против палочки инфлюэнцы типа b и оценки ее эффективности.

### 2.3.6. Менингококковая инфекция

Возбудителем менингококковой инфекции является грамотрицательный диплококк *Neisseria meningitidis*. Выделяют пять серологических типов менингококка — А, В, С, D, Е. В период эпидемий преобладает тип А, во внеэпидемический период — тип В. В диагностике менингококковой инфекции главное место занимает бактериологический метод исследования. Однако культивирование менингококков и выделение их в чистой культуре удается лишь у 30–40% больных. В связи с этим для диагностики используются серологические методы — выявление антигенов *Neisseria meningitidis* в СМЖ или антител в сыворотке крови. Для обнаружения антител применяют ряд методов, наиболее чувствительны и информативны из них РНГА и ИФА, в которых в качестве антигенов используют группоспецифические полисахариды.

#### 2.3.6.1. Антитела к менингококку в сыворотке крови

**Диагностический титр антител к менингококку для РНГА 1:40 (у детей до 1 года — 1:20) и выше.**

Исследуется сыворотка крови больного на 1–3-й день от начала заболевания и на 7–10-й день. Диагностическим считается нарастание титра антител через 7–10 сут не менее чем в 4 раза. Обычно с 5–6-го дня заболевания титры антител, выявляемых в РНГА, достигают 1:200 и выше.

Определение антител к менингококку применяется для диагностики менингококковой инфекции при бактериальных и серозных менингитах, а также уретритах.

#### 2.3.6.2. Антигены *Neisseria meningitidis* в спинномозговой жидкости

Важное значение для ранней диагностики менингококковой инфекции имеет исследование СМЖ у пациентов с менингеальной сим-

игтоматикой для выявления антигенов *Neisseria meningitidis*. Для этих целей в настоящее время выпускается множество диагностических тест-систем «Менинго-кит». В основе тест-систем лежит латекс-тест. При наличии антигенов менингококков в СМЖ латекс-тест становится положительным, результат можно получить в течение 15–30 мин (чувствительность и специфичность около 90 %).

Диагностические тесты, в основе которых лежит метод ИФА, для выявления антигенов менингококков в СМЖ обладают большей чувствительностью (более 80 %) и специфичностью (более 95 %), чем латекс-тесты.

### 2.3.7. Бруцеллез

Возбудитель бруцеллеза — бруцеллы — мелкие неподвижные грам-отрицательные бактерии. При постановке диагноза бруцеллеза полученные клинико-эпидемиологические данные должны быть подтверждены лабораторно. С этой целью используются бактериологический и серологический методы исследования. При остром бруцеллезе положительный результат исследования гемокультуры получают в 10–30 % случаев (в 62–90 % — если возбудитель *B. melitensis*, и в 5–15 % — если *B. abortus*). Культура СМЖ бывает положительной у 45 % пациентов с менингитом. При посевах крови, костного мозга, мочи культуру бруцелл можно получить через 5–10 сут, а в ряде случаев — через 20–30 сут. В связи с этим для диагностики бруцеллеза широкое распространение получили серологические методы.

#### 2.3.7.1. Антитела к возбудителю бруцеллеза в сыворотке крови

**В норме антитела к возбудителю бруцеллеза в крови отсутствуют. Диагностический титр при реакции агглютинации 1:160 и выше.**

Самым надежным серологическим тестом определения антител к возбудителю бруцеллеза в сыворотке крови является стандартный тест пробирочной агглютинации (реакция Райта), посредством которой определяют уровень антител, реагирующих главным образом с I.PS-антигенами бруцелл. Увеличение титров антител в 4 раза и более в пробах сыворотки крови, полученных с интервалом 1–4 нед., позволяет идентифицировать этиологический фактор заболевания. У большинства больных титры специфических антител повышают-

ся на 3–5-й день от начала заболевания. Достоверным считается титр антител не менее 1:160 с последующим его нарастанием. Повышенный титр антител выявляется у 97 % больных в первые 3 недели заболевания. Наиболее высокий титр антител наблюдают обычно через 1–2 мес. от начала заболевания, в дальнейшем он начинает быстро снижаться. Стандартный тест пробирочной агглютинации выявляет антитела к *B. abortus*, *B. suis*, *B. melitensis*, но не к *B. canis*. Повышенный титр антител может сохраняться у 5–7 % пациентов в течение 2 лет после перенесенной инфекции. Поэтому реакция Райта не может быть использована для дифференциальной диагностики бруцеллеза с другими инфекционными заболеваниями при наличии в анамнезе бруцеллеза в течение 2 последних лет. Причиной ложноположительных результатов могут служить проведение кожной пробы на бруцеллез, вакцинация против холеры, а также инфекции, вызванные холерным вибрионом, иерсиниями, *Francisella tularensis*. В ряде случаев могут отмечаться ложноотрицательные результаты реакции агглютинации у больных бруцеллезом, что объясняется эффектом прозоны или так называемым блокированием антител. При хронических локализованных формах бруцеллеза титры могут быть отрицательными или ниже 1:160. Агглютинирующие антитела класса IgG можно определить в реакции агглютинации путем экстрагирования с 2-меркаптоэтанолом. Антитела IgG появляются на 2–3-й неделе от начала заболевания, их титры достигают максимума примерно через 8 нед. и сохраняются весь период активной инфекции, благодаря чему они свидетельствуют о продолжающемся активном инфекционном процессе. На фоне проводимого лечения титры антител IgG быстро снижаются и в течение года приближаются к нулю. При рецидивах уровень антител IgG снова повышается. Наличие однократного повышения титра антител IgG более 1:160 является надежным объективным указанием на текущую или имевшую недавно место инфекцию. После лечения и выписки больного из стационара рекомендуется проведение серологических исследований в течение первого года через 1, 2, 3, 6, 9, 12 мес., а в течение второго года — ежеквартально.

РНГА более чувствительна и специфична для обнаружения бруцеллезных антител в сыворотке крови. Нередко геммагглютинины выявляют в тех случаях, когда реакция агглютинации дает отрицательный или сомнительный результат.

РСК позволяет выявлять комплементсвязывающие антитела к бруцеллам, которые появляются в крови позже агглютининов. Максимальные титры антител в РСК регистрируют к 4-му месяцу заболевания, в дальнейшем их титр снижается, но в небольшом количестве они обнаруживаются в течение года. Существенных преимуществ РСК по сравнению с реакцией агглютинации не имеет.

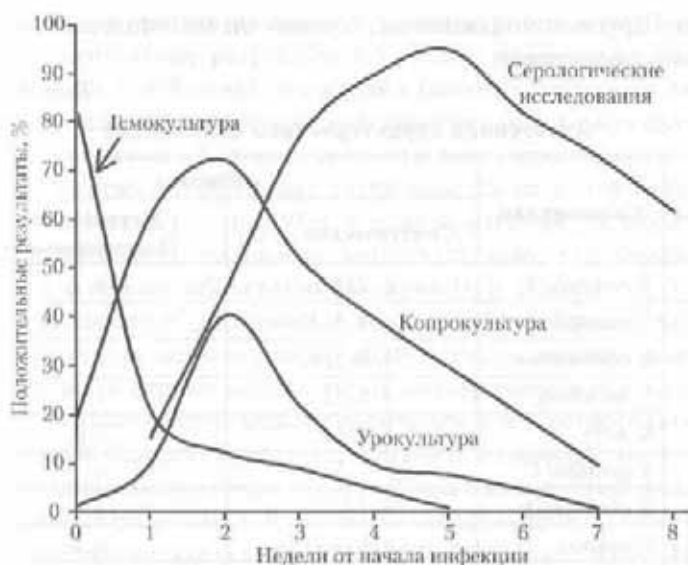
В последнее время метод агглютинации для выявления антител к бруцеллам в сыворотке крови вытесняет метод ИФА, который обладает большими чувствительностью (в 5–16 раз выше, чем реакция агглютинации и РНГА) и специфичностью.

### 2.3.8. Сальмонеллезная инфекция

Описано более 2200 серологических вариантов сальмонелл, из них у человека — более 700. Наиболее часто встречаются следующие сальмонеллы: *S. typhimurium*, *S. heidelberg*, *S. enteritidis*, *S. anatum*, *S. derby*, *S. london*, *S. panama*, *S. newport*. Ежегодно 20–35 % изолятов приходится на *S. typhimurium* [Пак С. Г. и др., 1988].

Бактериологическое исследование крови, кала и мочи является основным методом диагностики сальмонеллезной инфекции. Посевы крови дают положительный результат на протяжении первых 10 дней лихорадки или при наличии рецидива у 90 % пациентов, после 3 нед. заболевания — менее чем у 30 %. Положительную культуру при посеве кала получают на протяжении от 10 дней до 4–5 нед. менее чем в 50 % случаев. Обнаружение сальмонелл в кале через 4 мес. и позже после перенесенного заболевания (бывает у 3 % пациентов) свидетельствует о бактерионосительстве. При посевах мочи положительные результаты получают на протяжении 2–3 нед. у 25 % пациентов, даже если культура крови негативна. Возможности бактериологического и серологического методов для диагностики сальмонеллезной инфекции представлены на рис. 2.18 [Mahon C. R., Manuselis G., 2000].

Антигенная структура сальмонелл сложна. Она содержит О- и Н-антигены. О-антиген связан с соматической субстанцией клетки, термостабилен, одним из его компонентов является Vi-антиген; Н-антиген имеет жгутиковый аппарат, термолабилен. Различия в строении О-антигенов позволили выделить серологические группы сальмонелл: А, В, С, D, Е и др. На основании различий в строении



**Рис. 2.18.** Возможности бактериологического и серологического методов для диагностики сальмонеллезной инфекции

Н-антигенов внутри каждой группы установлены серологические варианты. Среди серологических методов диагностики до последнего времени широко применялась реакция Видалья, которая в последние годы постепенно утрачивает свое значение.

На основании антигенной структуры, присущей различным видам сальмонелл, разработаны О- и Н-монодиагностикумы, которые позволяют установить серологический вариант сальмонелл. Первоначально исследуется сыворотка крови в РПГА с комплексным препаратом эритроцитарного сальмонеллезного диагностикума, содержащего О-антиген. Далее при наличии агглютинации с комплексным диагностикумом РПГА ставят с препаратами групп А (1, 2, 12), В (1, 4, 12), С1 (6, 7), С2 (6, 8), D (1, 9, 12) и Е (3, 10). В табл. 2.20 представлена антигенная характеристика сальмонелл, на основании которой и осуществляется диагностика серологических вариантов сальмонелл.

Титр антител к Н-антигену в сыворотке крови больных с сальмонеллезами очень вариабелен, может давать неспецифическую ре-

акцию с другими инфекциями, поэтому он малополезен для диагностики заболевания.

Таблица 2.20

## Антигенная характеристика сальмонелл

Группа	Сальмонеллы	Антигены	
		Соматические — O	Жгутиковые — H-специфические
A	<i>S. paratyphi A</i>	1, 2, 12	a
B	<i>S. paratyphi B</i>	1, 4, 5, 12	b
	<i>S. typhimurium</i>	1, 4, 5, 12	i
	<i>S. heidelberg</i>	4, 5, 12	r
	<i>S. derby</i>	1, 4, 12	f, g
C1	<i>S. paratyphi C</i>	6, 7, Vi	e
	<i>S. choleraesuis</i>	6, 7	e
	<i>S. newport</i>	6, 8	e, h
D1	<i>S. typhi</i>	9, 12, Vi	d
	<i>S. enteritidis</i>	1, 9, 12	g, m
E1	<i>S. anatum</i>	3, 10	e, h
	<i>S. london</i>	3, 10	l, v

Vi-антителам в инфекционном процессе не придают диагностического и прогностического значения. Иначе обстоит дело с выявлением Vi-антител у бактерионосителей. Большая резистентность содержащих Vi-антиген сальмонелл к защитным механизмам человека обуславливает более длительное носительство этих форм (Vi-форм) тифозных палочек, вследствие чего в крови таких пациентов обнаруживаются Vi-антитела. Последние являются прямым доказательством носительства брюшнотифозных бактерий.

## 2.3.8.1. Антитела к сальмонеллам в сыворотке крови

Диагностический титр антител к сальмонеллам в сыворотке крови при РНГА 1:200 (1:100 — у детей до 1 года) и выше, при реакции агглютинации (реакция Видаля) — 1:40 (1:20 — у детей до 1 года) и выше.

В настоящее время для выявления антител к сальмонеллам (к O-антигенам) наиболее широко используются РНГА и ИФА,



которые более чувствительны по сравнению с реакцией Видаль и дают положительные результаты с 5-го дня заболевания (реакция Видаль — на 7–8-й день). Антитела у больных брюшным тифом, паратифом или другими серологическими типами сальмонелл появляются в крови уже к 4-му дню болезни и резко нарастают к 8–10-му дню. Их количество еще более увеличивается на 2–3-й неделе заболевания [Пак С. Г. и др., 1988]. У взрослых и старших детей РНГА дает подтверждение диагноза сальмонеллеза в 80–95 % случаев уже в конце 1-й недели заболевания [Бухарин О. В. и др., 2000]. У детей первого года жизни (особенно до 6 мес.) РНГА с сальмонеллезным антигеном оказывается отрицательной на протяжении всего заболевания. В первые месяцы после выздоровления исследование антител к сальмонеллам может служить для целей ретроспективной диагностики. Однако необходимо учитывать индивидуальные отклонения от нормального цикла иммуногенеза и изложенной динамики изменения титра антител. В ослабленном организме со сниженной реактивностью антитела вырабатываются слабо и медленно. Интеркуррентные заболевания также могут задержать их формирование. Раннее лечение левомецетином или ампициллином может привести к снижению титра антител или их отсутствию. Таким образом, титр антител менее 1:200 не позволяет исключить заболевание, поэтому чрезвычайно важно исследовать титр антител в динамике — в начале заболевания и через 10–14 сут. Нарастание титра антител через 10–14 сут не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток свидетельствует об инфекционном процессе.

При использовании реакции Видаль диагностически значимым считается титр от  $\geq 1:40$  до  $\geq 1:160$  в зависимости от географической области и лаборатории. При использовании cutoff 1:160 для диагностики инфекции чувствительность метода составляет 46 %, специфичность — 98 %; cutoff 1:80 дает чувствительность 66 %, специфичность — 94 %; при cutoff 1:40 чувствительность — 90 %, специфичность — 85 % [Rose N. R. et al., 1997].

Метод ИФА позволяет определять антитела IgA, IgM и IgG к липополисахариду клеточной стенки сальмонелл. Исследование антител IgM используется для диагностики сальмонеллеза. Эти антитела появляются в крови на 5–7-й день от начала заболевания, и их обнаружение свидетельствует в пользу заболевания. Антитела IgA обладают такой же чувствительностью в отношении диагно-

стики инфекции, как реакция агглютинации, но меньшей специфичностью. Так же как метод Видаля, исследование антител IgA полезно для диагностики только в 1-й месяц заболевания. Определение антител IgG может быть использовано для ретроспективной диагностики (нарастание титра в парных сыворотках) сальмонеллезной инфекции, подбора пациентов для вакцинации и оценки ее эффективности. Алгоритм диагностики сальмонеллезной инфекции представлен на схеме 2.9.

Помимо указанных антител метод ИФА может выявлять антитела IgG к Vi-антигену сальмонелл. Однако оценка результатов исследования затруднительна. Титрование контрольных позитивных и негативных сывороток может давать результаты от 1:50 до 1:800. В связи с этим в качестве cutoff используют величину абсорбции

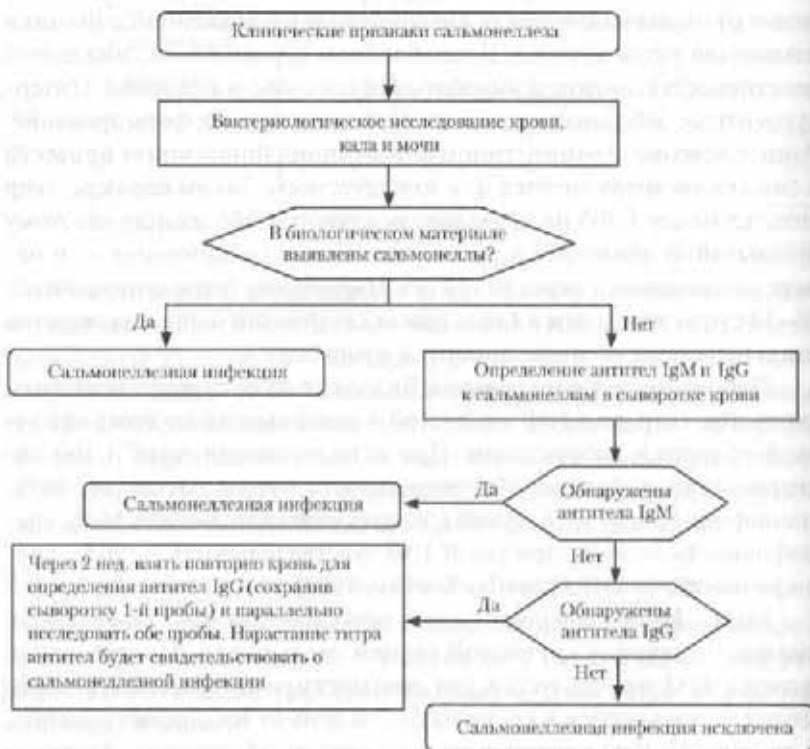


Схема 2.9. Алгоритм диагностики сальмонеллезной инфекции

(оптическую плотность), полученную при измерении результата, и степень разведения исследуемой сыворотки крови. При абсорбции  $\geq 0,2$  и разведении исследуемой сыворотки 1:200 чувствительность метода составляет 86 %, специфичность — 95 % в отношении выявления носительства брюшнотифозных бактерий и пациентов с острой тифоидной лихорадкой [Rose N. R. et al., 1997].

### 2.3.9. Туберкулез

Возбудитель туберкулеза — *Mycobacterium tuberculosis*. Туберкулез — широко распространенная инфекция. Основным методом ее диагностики является бактериологическое исследование (чувствительность 80–85 % при активных легочных формах и 7–10 % при туберкулезе почек). Однако микобактерии очень медленно растут на питательных средах, и для получения даже предварительного ответа при бактериологическом исследовании требуется 3 нед., что не устраивает клиницистов. В таких случаях до получения ответа результатов бактериологического исследования используют серологические методы диагностики.

#### 2.3.9.1. Антитела к возбудителю туберкулеза в сыворотке крови

**Диагностический титр антител к возбудителю туберкулеза в сыворотке крови выше 1:8.**

Определение антител к возбудителю туберкулеза в сыворотке крови — новый и очень перспективный метод серологической диагностики туберкулеза. Применяемый в настоящее время бактериологический метод выделения микобактерий туберкулеза требует значительных временных затрат (от 4 до 8 нед.) и весьма эффективен, в основном при легочных формах туберкулеза. Использование серологических методов диагностики, в частности ИФА, позволяет значительно сократить время лабораторного подтверждения клинического диагноза, активно применять его для диагностики внелегочных форм туберкулеза, особенно ценен для диагностики туберкулеза у детей (трудности со сбором мокроты, множественные рентгенологические исследования). Чувствительность метода ИФА для диагностики активных форм туберкулеза независимо от локализации составляет 75 %, а специфичность — 93 %.

Для обнаружения антител к возбудителю туберкулеза классов IgA и IgG разработаны слайдовые экспресс-тесты (анализ готов в течение 10 мин) на основе иммунохроматографического метода, чувствительность которого составляет 350 МЕ/мл (IgA и IgG).

Вместе с тем следует подчеркнуть, что определение антител к возбудителю туберкулеза в сыворотке крови позволяет сформировать лишь должную медицинскую настороженность клинициста в отношении туберкулезной инфекции (туберкулез органов дыхания, внелегочной туберкулез, мочеполовой, костно-суставной), оценки напряженности поствакцинального иммунитета, но не может использоваться в качестве единственного обоснования для подтверждения диагноза.

### 2.3.10. Дифтерия

Возбудитель дифтерии *Corynebacterium diphtheriae* был выделен в чистом виде Леффлером в 1884 г. *Corynebacterium diphtheriae* отличается полиморфизмом. В последние годы отмечается резкий рост заболеваемости дифтерией. Диагностика дифтерии основывается на клинических и эпидемиологических данных. Для подтверждения диагноза используют бактериологический метод исследования, направленный на выявление этиологического фактора — палочки Леффлера.

Возбудители дифтерии могут быть выделены через 8–12 ч в том случае, если больной не принимал противобактериальных препаратов. Однако следует учитывать, что при лечении антибиотиками (особенно пенициллином или эритромицином) до взятия материала на бактериологическое исследование роста бактерий можно не получить в течение 5 дней либо роста не бывает совсем. В этих случаях используются серологические методы диагностики, которые играют все более важную роль.

#### 2.3.10.1. Антитела к дифтерийному токсину в сыворотке крови

Из серологических методов используют РНГА и ИФА. Определяют уровень антител к дифтерийному токсину в начале заболевания (1–3-й день) и через 7–10 сут, диагностическим считается нарастание титра антител не менее чем в 4 раза. РНГА отличается высокой

чувствительностью и специфичностью. В последние годы на смену РНИА приходит метод ИФА, обладающий еще большей чувствительностью и специфичностью.

При выявлении контингента для проведения вакцинации определяют уровень антител до вакцинации, и если уровень антител низок или они отсутствуют, этим пациентам показана вакцинация; о ее эффективности судят по нарастанию уровня антител после вакцинации. Главной целью активной иммунизации является выработка специфического иммунитета. Анатоксин служит непреодолимым барьером для дифтерийного токсина и защищает организм от интоксикации. При подборе контингента для вакцинации необходимо руководствоваться критериями, приведенными в табл. 2.21 [Goldman L., Bennett J. C., 2000].

Таблица 2.21

**Титры антитоксических антител, характеризующих степень восприимчивости к дифтерии**

Титр антител, МЕ/мл	Интерпретация результата
Менее 0,01	Обследуемый восприимчив к дифтерии
0,01	Минимальный уровень циркулирующих антител, обеспечивающий некоторую защиту
0,01–0,09	Уровни циркулирующих антител, обеспечивающие некоторую защиту
0,1	Защитный уровень циркулирующих антител
≥ 1,0	Уровень антитоксина, обеспечивающий стойкую длительную невосприимчивость к дифтерии

Определение антител к дифтерийному токсину необходимо для диагностики дифтерийной инфекции, оценки напряженности иммунитета у обследуемых, оценки эффективности вакцинации дифтерийной вакциной.

### 2.3.11. Коклюш

Возбудитель коклюша *Bordetella pertussis* — короткая палочка с закругленными концами, грамотрицательная, неподвижная. Чаще болеют дети до 5 лет, у взрослых болезнь нередко протекает атипично. Основным методом лабораторной диагностики — бактериологический

(выделить культуру можно максимум у 90 % больных, окончательный ответ на 5–7-е сутки), часто используют метод прямой иммунофлюоресценции для обнаружения *Bordetella pertussis* (чувствительность — 60–70 %) и ПЦР (обладает 100 % чувствительностью и специфичностью), серологические методы непригодны для ранней диагностики коклюша.

### 2.3.11.1. Антитела к *Bordetella pertussis* в сыворотке крови

**Диагностический титр антител к *Bordetella pertussis* в сыворотке крови при РПГА 1:80 и выше (у непривитых).**

Для обнаружения антител к *Bordetella pertussis* в сыворотке крови используется РПГА. При исследовании в парных сыворотках для подтверждения диагноза необходимо получить нарастание титра антител в 4 раза и более (кровь на исследование берут с интервалом в 10–14 дней). Поэтому этот метод пригоден только для ретроспективной диагностики.

В последние годы разработаны тест-системы, позволяющие определять антитела классов IgA, IgM и IgG к антигенам *Bordetella pertussis* в сыворотке крови методом ИФА. Антитела класса IgM появляются в крови на 3-й неделе от начала заболевания, поэтому могут быть использованы для подтверждения этиологического диагноза. Динамика уровня антител класса IgA к токсину *Bordetella pertussis* во многом схожа с таковой для IgM. Антитела класса IgG появляются в крови несколько позже и могут обнаруживаться в крови в течение нескольких лет. Динамика различных классов антител к *Bordetella pertussis* в сыворотке крови приведена на рис. 2.19. Определение антител классов IgA, IgM и IgG является скрининговым и требует подтверждения — определения антител к смеси антигенов — токсину (действительному вирулентному фактору) и филаменту гемагглютинина *Bordetella pertussis* в сыворотке крови методом ИФА на тестовых полосках (метод Western-blot). Метод обладает специфичностью выше 95 %.

Помимо приведенных выше методов диагностики, разработаны тест-системы на основе ИФА, позволяющие количественно определять уровень антител IgA, IgM и IgG к токсину *Bordetella pertussis* в сыворотке крови. Антитела IgA и IgM обнаруживаются к концу 3-й недели заболевания и исчезают из крови в течение нескольких месяцев. Их выявление вместе с клинической картиной заболевания

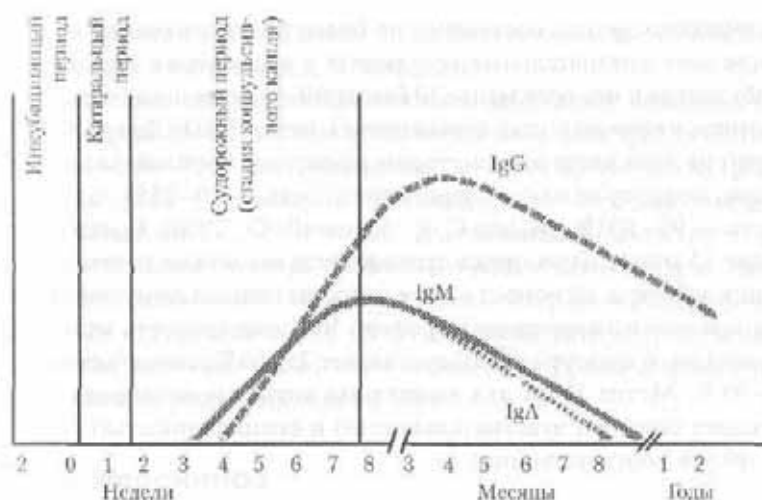


Рис. 2.19. Динамика уровня антител к *Bordetella pertussis*

указывает на наличие острой инфекции. Уровень антител класса IgG к токсину *Bordetella pertussis* в сыворотке крови выше 125 FDA единиц спустя 4 нед. после контакта с источником инфекции также помогает диагностировать заболевание или указывает на наличие хорошего защитного иммунитета после вакцинации. Обычно уровень антител IgG становится ниже 125 FDA единиц спустя год после перенесенной инфекции или вакцинации. Количественное определение антител класса IgG к токсину *Bordetella pertussis* в основном используется для подбора лиц для проведения вакцинации или оценки поствакцинального иммунитета.

### 2.3.12. Легионеллез

Легионеллез — острое инфекционное заболевание, характеризующееся лихорадкой, интоксикацией, пневмонией и, в ряде случаев, поражением ЦНС, ЖКТ и почек. Нередко развивается у больных СПИДом. Возбудитель легионеллеза — *Legionella pneumophila* — бактерии палочковидной формы, грамотрицательные. Для подтверждения диагноза используются бактериологические и серологические методы диагностики. Чувствительность бактерио-

логического метода составляет не более 85 %, поскольку исследование дает отрицательные результаты у пациентов с содержанием возбудителя в мокроте менее 10 бактерий. Совсем недавно для диагностики инфекции стал применяться метод ПЦР. Для выявления антигена легионелл этим методом исследуют бронхоальвеолярный лаваж, мокроту или мочу, чувствительность — 70–75 %, специфичность — 99–100 % [Mahon C. R., Manuselis G., 2000]. Быстрая (в течение 15 мин) диагностика легионеллеза возможна путем обнаружения антигена легионелл в моче методом прямой иммунофлюоресценции или иммунохроматографии. Чувствительность методов по сравнению с культуральным составляет 25–80 %, специфичность — 94–99 %. Метод ИФА для выявления антигена легионелл в моче обладает большей чувствительностью и специфичностью (90–95 и 95–99,9 % соответственно).

#### 2.3.12.1. Антитела к легионеллам в сыворотке крови

**Антитела к легионеллам в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Наиболее простым серологическим методом диагностики легионеллеза является реакция микроагглютинации. Чувствительность метода составляет 80 %, специфичность — 97–99 %. В 1-ю неделю инфекционного процесса антитела к легионеллам удается выявить у 25–40 % больных [Rose N. R. et al., 1997].

Метод НИФ позволяет одновременно выявлять антитела классов IgM и IgG. Диагностическим титром антител к легионеллам в сыворотке крови при однократном исследовании считается 1:128 и выше (ряд центров в США диагностическим титром при однократном исследовании считают 1:256 и выше) или нарастание титра антител в 4 раза и более при исследовании парных сывороток. Чувствительность и специфичность метода составляют максимально 75 и 96 % соответственно. У ряда пациентов с клинической картиной заболевания при использовании метода НИФ может не обнаруживаться нарастания титра антител в течение 8 нед. и более после появления клинических симптомов. Отсутствие повышения уровня антител не позволяет исключить заболевание. Титр 1:256 и выше может быть обнаружен у 1–16 % здоровых людей. Ложноположительные результаты являются следствием перекрестной реакции с антителами к другим грамотрицательным бактериям, что ограничивает возможности метода НИФ. У пациентов с кампилобактерной



инфекцией часто наблюдаются ложноположительные результаты исследования на антитела к легионеллам.

В последнее время для диагностики инфекции используется ИФА, который позволяет выявлять антитела класса IgM (чувствительность — 60–70 %, специфичность — 90–99 %). Антитела IgM в сыворотке крови к легионеллам появляются с 6–7-го дня болезни, титр их нарастает ко 2–3-й неделе заболевания. Диагностическим считается нарастание титра антител в 4 раза и более, а при однократном исследовании — высокий уровень содержания специфических антител (титры не менее 1:128). Высокий титр антител может сохраняться в течение нескольких месяцев. Алгоритм диагностики легионеллеза приведен на схеме 2.10.

### 2.3.13. Иерсиниоз

Возбудитель иерсиниоза — грамотрицательный микроорганизм *Yersinia enterocolitica*. По антигенной структуре различают более 50 сероваров иерсиний. Наибольшее значение в патологии человека



Схема 2.10. Алгоритм диагностики легионеллезной инфекции

имеют серовары 03, 05, 07, 08, 09 [Сомов Г. П. и др., 1990]. *Yersinia enterocolitica* — возбудитель кишечного иерсиниоза, которому свойственно преимущественное поражение ЖКТ. Поскольку бактериологическая диагностика иерсиниозов трудоемка, длительна и не всегда завершается выделением возбудителя, главная роль в лабораторной диагностике принадлежит серологическим методам — РНГА (реакция Видала) и ИФА. В последнее время для обнаружения генов, обуславливающих патогенность *Yersinia enterocolitica*, используют различные тест-системы для ПЦР. С их помощью выявляют гены, входящие в состав остова высокой патогенности, локализованные на плазмиде, такие как ген *vir F* (кодирует белок, регулирующий экспрессию генов *uor*), ген *yadA* (кодирует синтез адгезина) и ген, кодирующий синтез V-антигена.

### 2.3.13.1. Антитела к возбудителю иерсиниоза в сыворотке крови

**Диагностический титр антител к возбудителю иерсиниоза в сыворотке крови для РНГА 1:100 и выше.**

Серологическая диагностика имеет большое значение не только для подтверждения клинического диагноза, но и определения этиологической роли выделенных иерсиний. Уровень антител повышается спустя неделю после появления клинических симптомов. Для диагностики заболевания в реакции Видала исследуются сыворотки, взятые в начале заболевания (1–3-й день) и повторно (7–10-й день). **Диагностическим считается титр более 1:100 или нарастание титра антител через 7–10 сут не менее чем в 4 раза при исследовании парных сывороток.** Титр более 1:100 имеет место в большинстве случаев иерсиниоза, но 4-кратное увеличение бывает редко. Характерны значительное нарастание титра антител на 2–3-й неделе (обычно пик на 2-й неделе) и снижение их уровня после 5-й недели заболевания. Наиболее часто выявляются антитела к иерсинии энтероколитика типов 03 и 09. В связи с этим применяемые в клинической практике коммерческие диагностикумы позволяют диагностировать случаи заболеваний, вызванные только этими сероварами, тогда как у многих больных не менее значимы и другие типы иерсиний. Следует помнить, что антитела в крови могут сохраняться в течение нескольких лет после заболевания и могут давать перекрестные реакции с *Brucella abortus*, *Rickettsia species*. Титры

1:50 встречаются приблизительно у 1,5 % здоровых лиц, не имевших в анамнезе никаких инфекций.

Разработаны рекомбинантные линии тестов для диагностики иерсиниозов, которые позволяют выявлять антитела классов IgA, IgM и IgG к различным антигенам иерсиний. Они представляют собой тест-полоски с нанесенными на нитроцеллюлозу антигенами для обнаружения антител в сыворотке крови. Антигены, используемые в этих тестах, локализованы на поверхности бактерий и экспрессируются только патогенными для человека иерсиниями. К таким антигенам, которые нанесены на все 3 типа тест-полосок (для выявления антител классов IgA, IgM и IgG), относятся мембранные белки М (молекулярная масса 58 000 Да), Н (46 000 Да), V-AG (38 000 Да), D (35 000 Да), N (34 000 Да) и E (25 000 Да). В отличие от РНГА эти тесты обладают более высокой чувствительностью и специфичностью — все заболевания, вызванные патогенными для человека иерсиниями, удастся диагностировать. Вместе с тем рекомбинантные линии тестов выявляют и антитела, присутствующие в крови пациентов после перенесенной инфекции. В таких случаях отдельное исследование антител классов IgM и IgG позволяет правильно интерпретировать полученные результаты. Присутствие антител класса IgM к антигенам иерсиний однозначно указывает на наличие острой инфекции. Большим достоинством рекомбинантной линии тестов для диагностики иерсиниозов является отсутствие перекрестной реакции с *B. abortus* и другими инфекциями. Высокий уровень антител класса IgA к иерсиниям характерен для пациентов с реактивными артритом, узловой эритемой и другими ревматическими заболеваниями, ассоциированными с антигеном HLA-B27.

Определение антител к возбудителю иерсиниоза применяется для диагностики иерсиниоза, в том числе при бактериальных артритах, болезни Рейтера, синдроме Бехчета, инфекционных артропатиях.

#### 2.3.14. Псевдотуберкулез

Псевдотуберкулез (дальневосточная скарлатиноподобная лихорадка) — острое инфекционное заболевание, относящееся к алиментарным зоонозам. Возбудитель псевдотуберкулеза — *Yersinia pseudotuberculosis*, грамотрицательная палочка, относится к семейству энтеробактерий. Различают 6 серовариантов (I–VI) *Yersinia pseudo-*

*tuberculosis*. Заболевание человека чаще всего вызывают иерсинии I, реже — III и IV серовариантов. Псевдотуберкулез характеризуется общей интоксикацией, скарлатиноподобной сыпью, поражением ЖКТ и суставов. Серологический метод является основным методом лабораторной диагностики псевдотуберкулеза, так как бактериологическое исследование кала, мочи, мокроты, СМЖ, желчи требует длительного времени (15–28 сут) и дает положительный результат в 15–30% [Иванова В. В., 2002].

#### **2.3.14.1. Антитела к возбудителю псевдотуберкулеза в сыворотке крови**

**Диагностический титр антител к возбудителю псевдотуберкулеза в сыворотке крови для РНГА 1:100 и выше.**

Определение антител к возбудителю псевдотуберкулеза в сыворотке крови — ретроспективный метод диагностики псевдотуберкулеза. Исследуются парные сыворотки больного. Для выявления специфических антител кровь на исследование берут в начале заболевания и через 7–10 сут после первичного исследования. Диагностическим признаком псевдотуберкулеза является нарастание титра антител через 7–10 сут не менее чем в 4 раза или однократный титр 1:100 и выше. РНГА — высокоспецифичный метод, который дает положительные результаты более чем у 80% больных [Сомов Г. П. и др., 1990]. Антитела с помощью РНГА выявляются уже в 1-ю неделю заболевания.

Метод ИФА позволяет определять специфические антитела к порообразующему белку (антигену) наружной мембраны бактерий. Коммерческие тест-системы на основе ИФА диагностируют только случаи заболеваний, вызванные I типом бактерий [Иванова В. В., 2002].

Определение антител к возбудителю псевдотуберкулеза применяется для диагностики псевдотуберкулеза, в том числе при бактериальных артритах, болезни Рейтера, синдроме Бехчета, инфекционных артропатиях.

#### **2.3.15. Болезнь Лайма**

Болезнь Лайма, или системный клещевой боррелиоз, — репидивирующая трансмиссивная природно-очаговая инфекция, вызываемая

спирохетой *Borrelia burgdorferi* (спиралевидной формы подвижные грамотрицательные бактерии).

Для заболевания характерна стадийность клинической картины.

Стадия 1 — развивается через 3–33 дня после укуса насекомого (клеща) и проявляется лихорадкой, эритематозной мигрирующей сыпью (у 85 % больных).

Стадия 2 — наступает спустя 4 нед. после укуса; у 10 % больных появляется сердечная патология, у 15 % развивается неврологическая симптоматика (симптомы асептического менингита, паралич Белла, периферические невропатии).

Стадия 3 — развивается через 6 нед. до нескольких лет после укуса; бывает у 60 % нелеченных пациентов и проявляется артритом (часто расценивают как ювенильный ревматоидный); может возникнуть реинфекция.

Для подтверждения диагноза используется метод ИФА для выявления специфических антител классов IgM и IgG к боррелиям.

### 2.3.15.1. Антитела к боррелиям в сыворотке крови

**Антитела к боррелиям в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

При болезни Лайма специфические антитела IgM обычно появляются в крови через 2–4 нед. после возникновения мигрирующей эритемы, пик антител приходится на 6–8-ю неделю заболевания, возвращаясь к норме через 4–6 мес. В стадии 1 антитела IgM выявляют у 40–60 % больных. У некоторых пациентов уровень IgM остается повышенным в течение многих месяцев или появляется вновь в конце заболевания, что свидетельствует о продолжающемся инфицировании и неэффективности антибиотикотерапии. Уровень антител IgG повышается более медленно (через 4–6 нед. после эритемы), пик приходится на 4–6-й месяц, может оставаться высоким месяцы и годы даже на фоне успешного лечения. Почти все пациенты с осложнениями 2-й и 3-й стадий имеют высокий уровень антител IgG. Однократное определение антител IgG диагностического значения не имеет, так как может свидетельствовать о ранее перенесенной инфекции. Исследование парных сывороток (острая фаза и выздоровление), взятых с интервалом 4–6 нед., показывающее снижение или нарастание уровня IgG, указывает на выздоровление или наличие инфекции. Сомнительные результаты определений уровня IgM и IgG должны быть подтверждены мето-

дом иммуноблоттинга — Western-blot — встречной преципитацией в геле антител в сыворотке крови больного.

Алгоритм серологической диагностики болезни Лайма представлен на схеме 2.11.

Ложноположительные результаты определения антител IgM могут быть получены при наличии в крови больного РФ, а высокий уровень антител IgG может быть обусловлен антителами при болезнях, вызываемых спирохетами (сифилис, возвратный тиф); низкий уровень антител IgG возможен при инфекционном мононуклеозе, гепатите В, ревматических болезнях (СКВ), заболеваниях пародонта, у 5–15 % здоровых лиц из эпидемической зоны.

Для обнаружения антигена *Borrelia burgdorferi* в СМЖ и моче применяют метод ИФА и Western-blot. В настоящее время разработаны диагностические тест-системы для выявления спирохет в крови методом ПЦР.



Схема 2.11. Алгоритм обследования пациентов с подозрением на болезнь Лайма

### 2.3.16. Туляремия

Туляремия — первичная болезнь животных (грызунов), у человека протекает в виде острого инфекционного заболевания с разнообразной клинической картиной. Возбудитель — *Francisella tularensis* — кокковидные или эллипсоидные полиморфные палочки, грамтрицательные. Возбудитель туляремии является внутриклеточным паразитом, в S-форме имеет два антигена — O и Vi (капсульный антиген). В связи с полиморфной клинической картиной туляремии в ее диагностике решающее значение имеют серологические реакции, так как бактериологическими методами выделить возбудитель от больного человека не удается (она доступна только специализированным лабораториям).

#### 2.3.16.1. Антитела к возбудителю туляремии в сыворотке крови

**Антитела к возбудителю туляремии в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Для диагностики туляремии применяют реакцию агглютинации (в пробирках и микроагглютинация) и ИФА. При использовании реакции агглютинации антитела обнаруживают со 2-й недели после возникновения клинической картины заболевания. Диагностическим считается титр 1:160 и выше при агглютинации в пробирках и 1:128 и выше при микроагглютинации при наличии анамнеза и клинической картины заболевания. Повышенный уровень антител спустя 2 нед. после начала инфекции можно обнаружить у 89–95,4 % больных [Murray P. R., 2003]. Реакция агглютинации может давать перекрестную реакцию с бруцеллезными антителами, однако титр обычно  $\leq$  1:20.

На 3–5-й день заболевания для диагностики можно использовать внутрикожную аллергическую пробу с тулярином (0,1 мл вводят внутрикожно в среднюю треть предплечья). Учет реакции производится через 24–48 ч. Кожная проба считается положительной при наличии гиперемии и инфильтрата.

ИФА — более чувствительный и специфичный метод диагностики туляремии, позволяет выявлять антитела IgA, IgM и IgG. Обнаружение антител IgM или 4-кратное увеличение уровня IgG подтверждают острую инфекцию или реинфекцию при наличии

соответствующей клинической картины заболевания. Оценку результатов определения антител IgM в эндемичных областях по туляремии следует проводить более осторожно. Антитела IgM исчезают в течение нескольких месяцев после успешного лечения (сохраняются не более года), антитела IgG сохраняются пожизненно. Метод ИФА не позволяет дифференцировать серотип А и В *Francisella tularensis*, так как в нем используется рекомбинантный антиген для обоих серотипов. Однако метод ИФА не дает реакции с антителами к другим видам *Francisella*.

### 2.3.17. Лептоспироз

Лептоспироз — природно-очаговое инфекционное заболевание, характеризующееся поражением капилляров, почек, печени, мышц, сердечно-сосудистой и нервной систем, сопровождающееся или не сопровождающееся желтухой. Все патогенные лептоспиры объединены в один вид — *Leptospira interrogans*, в который входят различные серологические варианты (известно более 200 сероваров). Для диагностики лептоспироза используют микроскопический (исследование крови или СМЖ в темном поле или окрашенных препаратов по Романовскому—Пимзе), бактериологический (посевы крови положительны почти в 90 % случаев в первые 3 дня болезни; после 1-й недели заболевания спирохеты могут быть обнаружены в моче) и серологический методы (РСК, ИФА).

#### 2.3.17.1. Антитела к возбудителю лептоспироза в сыворотке крови

**Антитела к возбудителю лептоспироза в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

При использовании РСК антитела к лептоспирам (IgM и IgG) обнаруживают в крови на 10–21-й день после клинических проявлений заболевания; увеличение титра более чем в 4 раза при исследовании парных сывороток свидетельствует в пользу инфекции. Повышенный титр антител может сохраняться годами. В качестве диагностического титра при однократном исследовании РСК рекомендуются значения 1:1600 и выше. Положительные результаты РСК должны быть подтверждены в РНГА, ИФА, а лучше — Western-blot из-за возможной перекрестной реакции с антителами к вирусу гепатита А, сифилису, ЦМВ и микоплазме.



РНГА используется для подтверждения РСК — скринингового метода. Чувствительность РНГА составляет 92 %, специфичность — 95 %.

ИФА позволяет выявлять антитела классов IgM и IgG к лептоспирам. Антитела класса IgM могут быть обнаружены в крови на 4–5-й день болезни, достигают пика на 2–3-й неделе, затем снижаются в течение месяцев. Антитела IgG появляются на 3–4-й неделе болезни, достигают пика между 4-м и 6-м месяцем после начала заболевания и сохраняются годами. Наличие в сыворотке крови антител IgM или 4-кратное увеличение титра антител IgG позволяет диагностировать заболевание. Для подтверждения положительных результатов определения антител классов IgM и IgG к лептоспирам рекомендуют использовать метод Western-blot (наличие антител IgM подтверждается, если выявляют антитела к 2 или 3 протеинам — 24, 39, 41 и kD<sub>2</sub>; антител IgG — при наличии антител к 5 протеинам из следующих: 18, 21, 28, 30, 39, 41, 45, 58, 66 и 93 kD<sub>2</sub>) [Mahon C. R., Manuselis G., 2000].

### 2.3.18. Кампилобактериоз

Кампилобактериоз — острое инфекционное заболевание, относящееся к зоонозам, которое характеризуется общей интоксикацией и поражением ЖКТ, у части больных могут наблюдаться генерализованные формы. Возбудители заболевания — различные серотипы (всего около 40) *Campylobacter jejuni*. Кампилобактеры — мелкие неспорообразующие грамотрицательные бактерии изогнутой формы (вибрион), с 1 или 2 полярно расположенными жгутиками, которые имеют термостабильный O-антиген и термолабильный H-антиген.

Кампилобактериоз распространен повсеместно, на его долю приходится 5–10 % всех острых дизентерийных заболеваний. Основной путь распространения инфекции — пищевой.

Ведущее значение в установлении диагноза кампилобактериоза имеет бактериологическое исследование (выделение возбудителя из испражнений, содержимого червеобразного отростка, мезентериальных лимфатических узлов, крови, ликвора, гноя абсцессов). Для получения чистой культуры используют селективные среды, выращивание осуществляют в анаэробных условиях с низким содержанием кислорода (5–10 %).

Для серологической диагностики кампилобактериоза применяют РНГА или ИФА. В РНГА исследуют парные сыворотки, взятые в 1–3-и сутки от начала клинических проявлений инфекции и спустя 10–14 дней. Увеличение титра антител более чем в 4 раза при исследовании парных сывороток свидетельствует в пользу инфекции. При однократном анализе диагностическим является титр 1:160 и выше.

ИФА позволяет выявлять антитела классов IgA, IgM и IgG. Антитела IgA выявляют только в первые несколько недель после начала заболевания, а затем их уровень быстро снижается. Чувствительность и специфичность определения антител IgM и IgG для диагностики заболевания очень вариабельна.

В основном серологические методы исследования используются для эпидемиологических обследований и не могут быть рекомендованы для клинической диагностики кампилобактериоза.

### 2.3.19. Хеликобактериоз

Возбудитель хеликобактериоза *Helicobacter pylori* — грамотрицательная палочка, чаще всего имеющая S-образную форму. *Helicobacter pylori* встречается в среднем у 87 % больных язвенной болезнью и 75 % больных острыми гастритами [Браунвальд Е., 1993]. После проникновения бактерий в желудок происходит их адгезия к клеткам желудочного эпителия в области межклеточных промежутков. Последнее обусловлено хемотаксисом бактерий к местам выхода мочевины и гемина, которые используются для жизнедеятельности бактерий. Расщепляемая уреазой бактерий мочевина превращается в аммиак и углекислый газ, которые создают вокруг колоний бактерий защитный слой, предохраняющий их от неблагоприятного pH желудочного сока.

В настоящее время исследован ряд механизмов, объясняющих действие *Helicobacter pylori* на слизистую оболочку.

Во-первых, аммиак, получаемый в результате разложения мочевины уреазой, вырабатываемой бактериями, обладает способностью прямо или косвенно разрушать эпителиальный барьер.

Во-вторых, бактерии *Helicobacter pylori* обладают способностью продуцировать цитопатические токсины.

В-третьих, они способны продуцировать протеиназу и ферменты, разрушающие слизистую оболочку желудка.

В-четвертых, *Helicobacter pylori* снижают гидрофобную емкость эпителиального слоя, что связано с действием липаз, продуцируемых бактериями.

Жизнедеятельность хеликобактеров связана исключительно с эпителием желудочного типа, поэтому патология двенадцатиперстной кишки (или других отделов кишечника и пищевода), обусловленная *Helicobacter pylori*, возможна лишь при желудочной дисплазии в двенадцатиперстной кишке (или других отделах ЖКТ).

Для диагностики *Helicobacter pylori* используются следующие методы диагностики.

1. Бактериологические:

- обнаружение бактерий в мазках-отпечатках;
- выделение культуры *Helicobacter pylori* (чувствительность метода — 33–97 %, специфичность — 100 %).

2. Серологические: РСК, РНГА, ИФА, иммуноблоттинг.

3. Морфологические:

- гистологический: выявление хеликобактеров в биоптате при окраске по Романовскому—Гимзе, по Граму и др. (чувствительность метода — 86–99 %, специфичность — 86–95 %);
- цитологический — исследование мазков-отпечатков (1–2 и более), полученных при эндоскопии из биоптатов антрального отдела слизистой оболочки желудка (чувствительность метода — 80–90 %, специфичность — 100 %).

4. Биохимические:

- уреазный тест с биоптатами (тесты промышленного производства: CLO-тест, Де-Нол-тест, PyloTest, CUT-тест, Хелпил-тест, Сампу-тест и др.) (чувствительность метода составляет 65–95 %, специфичность — 75–100 %);
- анализ выдыхаемого воздуха (азротест, при котором в выдыхаемом воздухе определяется содержание аммиака, или проводится более сложный анализ содержания в выдыхаемом воздухе количества  $^{13}\text{C}$  и  $^{14}\text{C}$  после принятия пациентом внутрь мочевины, предварительно меченой указанными изотопами) (чувствительность метода составляет до 99 %, специфичность — 98 %).

5. Иммуноферментный анализ:

- обнаружение *Helicobacter pylori* в кале;

- обнаружение *Helicobacter pylori* в слюне и трансудате десен (чувствительность — 66 %, специфичность — 66,7 %).
6. Полимеразная цепная реакция (см. разд. 2.8 «Полимеразная цепная реакция в диагностике инфекционных заболеваний»).

Уреазный тест основан на способности бактерий *Helicobacter pylori* выделять большое количество уреазы. Полученный при фиброгастроскопии биоптат погружают в полужидкую среду желтого цвета, где содержится мочевины и вещество — индикатор pH, которое в щелочной среде, возникающей при расщеплении мочевины уреазой бактерий (при их наличии в биоптате), дает красное окрашивание.

### 2.3.19.1. Антитела к *Helicobacter pylori* в сыворотке крови

В норме антитела IgG к *Helicobacter pylori* при их качественном определении в сыворотке крови отсутствуют, при количественном исследовании — титр антител IgG меньше 8 Е/мл, а 8–12 Е/мл — пограничная зона.

Самым широко распространенным серологическим методом диагностики *Helicobacter pylori* является метод ИФА. Метод неинвазивный и косвенный — в крови больного определяют антитела к *Helicobacter pylori*, относящиеся к иммуноглобулинам класса А, М и, чаще всего, G. При использовании этого метода в общем титре антител наиболее ценным является определение уровня IgG- и IgA-антител к *Helicobacter pylori*. Чувствительность метода колеблется от 87 до 98 %, специфичность — от 75 до 100 % [Серебрянская М. В., Погромов А. П., 1988; Чайка Н. А. и др., 1988]. ИФА — самый подходящий метод для эпидемиологических обследований и скрининга. Его применение в клинической практике определяется индивидуально в конкретной ситуации. Пациенту, предъявляющему гастроэнтерологические жалобы, как правило, необходимо проведение эндоскопии, чтобы оценить состояние гастродуоденальной слизистой оболочки, целесообразно одновременно взять биоптаты для уреазного теста и/или гистологического исследования, в таком случае ИФА не понадобится [Лапина Т. Л., 1999]. Простое качественное определение антител к *Helicobacter pylori* методом ИФА используют главным образом для диагностики инфекции. Их определение для контроля за эффективностью лечения малоперспективно, так как при успешной эрадикации антитела исчезают из крови только через 3–12 мес. и позже (до 24 мес.) после ее окончания.

В последние годы были получены диагностические тест-системы на базе ИФА, которые обладают высокой чувствительностью и позволяют количественно определять антитела к *Helicobacter pylori* различных классов. Такие тест-системы можно применять для оценки эрадикации. Было показано в сравнении с инвазивными методами (гистологический, уреазный), что если через 30–40 дней после лечения значение титра антител IgG уменьшилось на 20 % или более, можно считать, что в результате лечения наступила эрадикация *Helicobacter pylori*; если значение титра повышется, не изменяется или его уменьшение составляет менее 20 %, то это необходимо расценивать как отсутствие эрадикации [Perez-Perez G. I. et al., 1997].

В настоящее время в распоряжении специалистов клинической лабораторной диагностики имеются диагностические наборы для серологического анализа, которые позволяют оценивать патогенность штаммов *Helicobacter pylori*. Такие штаммы характеризуются наличием гена *CagA*, продуцируют цитотоксин-ассоциированный белок и чаще обнаруживаются у больных язвенной болезнью и раком желудка. Метод ИФА позволяет обнаружить антитела к цитотоксин-ассоциированному белку в сыворотке крови больных. Диагностическая чувствительность тест-систем для обнаружения антител к *CagA* белку *Helicobacter pylori* составляет 90–100 %, специфичность — 76–94 % [Basso D. et al., 1999].

Преимуществами метода ИФА являются меньшая травматичность по сравнению со всеми другими методами, где нужен забор биоптата слизистой оболочки желудка, для анализа требуется несколько микролитров сыворотки, в оборудованной лаборатории можно одновременно выполнить десятки исследований и получить результаты в короткие сроки (2,5–3 ч).

Недавней разработкой являются качественные тесты для определения антител к *Helicobacter pylori*, которые можно выполнить у постели больного. Они основаны на латекс-агглютинации или твердофазном ИФА и выявляют антитела IgG к *Helicobacter pylori*. Для проведения исследования нужна капля крови, взятой из пальца, результат считывается буквально через несколько минут, никаких дополнительных реактивов не требуется. Диагностическая чувствительность таких тестов составляет 94 %, а специфичность — 98 % [Кудрявцева Л. В., Минаев В. И., 1998]. Эти тесты незаменимы в

небольших больницах или амбулаториях, где потребность в диагностике определяется единичными анализами, или в кабинете семейного врача.

В 1998 г. появились тест-системы для количественного определения антигена *Helicobacter pylori* в фекалиях больных методом ИФА, которые имеют большие перспективы. Диагностическая чувствительность таких методов в отношении выявления данных бактерий составляет 88,9 %, специфичность — 94,6 % [Makrithathis A. et al., 1998].

Определение антител к *Helicobacter pylori* необходимо для диагностики заболеваний, вызванных хеликобактером, в том числе при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, раке желудка, язве пищевода.

### 2.3.19.2. Иммуноблоттинг для определения антител к белкам *Helicobacter pylori* в сыворотке крови

Исследования последних лет показали, что развитие гастрита и язвы желудка связано в первую очередь с колонизацией слизистой токсигенными штаммами *Helicobacter pylori*, в то время как колонизация нетоксигенными штаммами только в небольшом проценте случаев приводит к развитию этих заболеваний. Токсигенность штаммов обусловлена продукцией вакуолярного цитотоксина, синтез которого связан с продукцией белка с молекулярной массой 120 000–128 000 Да, кодируемого геном CagA (cytoxin-associated gene A), а также токсинов, кодируемых геном VacA. Простое определение антител в сыворотке крови пациента свидетельствует о наличии инфекции *Helicobacter pylori*, но не дает информации о том, вызвана ли она наличием токсигенных штаммов бактерий. При получении положительного результата для подтверждения наличия токсигенных штаммов бактерий используется метод иммуноблоттинга Western-blot — встречная преципитация в геле антител в сыворотке крови больного с различными белками *Helicobacter pylori*, подвергнутыми разделению по молекулярной массе с помощью электрофореза и нанесенными на нитроцеллюлозу. Иммуноблоттинг позволяет выявить наличие антител в крови пациента к токсигенным белкам *Helicobacter pylori*, таким как CagA и VacA, уреазным субъединицам, а также белкам с молекулярной массой 19 500, 26 500, 30 000, 36 000 и 89 000 Да, которые специфичны для этой инфекции. Данный

метод позволяет исключить неспецифическое увеличение уровня антител при простом серологическом исследовании (чувствительность — 98 %, специфичность — 97 %).

При помощи данного метода штаммы *Helicobacter pylori* в настоящее время подразделяют на 4 серотипа в зависимости от выработки микроорганизмами цитотоксина VacA и цитотоксин-ассоциированного белка CagA: тип I (CagA+, VacA+), тип Ia (CagA+, VacA-), тип Ib (CagA-, VacA+) и тип II (CagA-, VacA-) [Purk S. M. et al., 1997]. В своих исследованиях M. Plebani и соавт. [1999], В. Д. Пачесников и соавт. [2000] показали, что инфицирование CagA-положительными (серотип Ia) штаммами *Helicobacter pylori* является фактором риска развития выраженного воспалительного ответа в слизистой оболочке желудка. Определение типа штаммов *Helicobacter pylori* у инфицированных имеет важное прогностическое значение. Л. Й. Аруин [1999], J. Rudi и соавт. [1998] приводят данные о том, что пациенты со штаммами CagA+ *Helicobacter pylori* в значительно большей степени подвержены риску развития язвенной болезни и рака желудка, чем инфицированные штаммами CagA-.

### 2.3.20. Хламидийная инфекция

Хламидии представляют большую группу облигатных внутриклеточных паразитов, очень близких к грамотрицательным бактериям. Их можно рассматривать как грамотрицательные бактерии, которые утратили способность синтезировать АТФ, ГТФ и ряд других ферментных систем — иными словами, утратили способность выработки метаболической энергии. Этот дефект обуславливает их внутриклеточный рост, благодаря которому они имеют доступ к богатой энергией промежуточным продуктам метаболизма клеток хозяина. В семействе *Chlamydiaceae* в настоящее время выделено два рода — *Chlamydia* и *Chlamydophila*, причем они отличаются между собой и по фенотипическим признакам.

Представители рода *Chlamydia* обладают сходными по структуре экстрахромосомными элементами, способны накапливать гликоген во включениях. Элементарные тельца, попав в клетку хозяина, стремятся слиться в одно общее большое включение, биологический смысл которого в обмене генетической информацией, что обуславливает большую генетическую вариабельность возбудителя. Пред-

ставители рода *Chlamydophila* не способны продуцировать гликоген, каждое элементарное тельце образует собственное включение, которых может быть много и причем более мелких.

Род *Chlamydia* включает три вида: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia muridarum* и *Chlamydia suis*. *Chlamydia trachomatis* является исключительно паразитом человека, вызывает трахому, урогенитальные заболевания, некоторые формы артрита, конъюнктивит и пневмонию новорожденных. *C. trachomatis* имеет два биовара: trachoma (14 сероваров) и LGV (4 серовара). Другие виды *Chlamydia* заболеваний у человека не вызывают.

Все хламидии сходны по морфологическим признакам, имеют общий групповой антиген и размножаются в цитоплазме организма-хозяина, проходя определенные стадии развития (рис. 2.20). Инфекционным началом является так называемое элементарное тельце — маленькая клетка диаметром около 0,3 мкм. Эта частица проникает в клетку хозяина при фагоцитозе. Из поверхностных мембран клетки хозяина вокруг этой маленькой частицы образуется вакуоль. Элементарное тельце делится, превращаясь в ретикулярное тельце диаметром около 0,5–1,0 мкм. Внутри образованной вакуоли крупная частица увеличивается в размерах и многократно делится путем образования поперечной перегородки. В результате вся вакуоль заполняется элементарными частицами (из одного элементарного тельца получается от 200 до 1000 инфекционных единиц) и превращается во включение в цитоплазме клетки хозяина. Новообразованные элементарные тельца выходят из клетки, которая в конечном счете разрывается, и могут инфицировать новые клетки. Весь цикл развития занимает 48–72 ч.

Род *Chlamydophila* составляют 6 видов: *C. psittaci*, *C. pneumoniae*, *C. pecorum*, *C. abortus*, *C. caviae* и *C. felis*.

*Chlamydophila pecorum* является исключительно возбудителем заболеваний животных. Несколько штаммов *C. pecorum* выделены у сумчатых (коала), жвачных млекопитающих и свиней.

*Chlamydophila pneumoniae* является возбудителем респираторных инфекций. Этот вид имеет три биовара: TWAR (Taiwan acute respiratory), Koala и Equine, названия которых связаны с источником выделения штаммов. Все штаммы *C. pneumoniae*, паразитирующие у животных и человека, имеют сходные генетические и антигенные характеристики, что позволяет рассматривать их как представителей





**Рис. 2.20.** Жизненный цикл хламидий

одного вида. Штаммы TWAR в основном являются возбудителями заболеваний респираторного тракта у человека, вызывая преимущественно острые и хронические бронхиты и пневмонии. В последнее время накапливается все больше данных, свидетельствующих о возможной взаимосвязи *C. pneumoniae* с развитием атеросклероза и бронхиальной астмы.

*Chlamydophila psittaci* включает штаммы, для которых основными хозяевами являются птицы. Все эти штаммы могут передаваться человеку, вызывая пситтакоз. *C. psittaci* включает 8 сероваров, многие из которых могут паразитировать у нескольких видов птиц.

*Chlamydophila abortus* названа по основному состоянию, вызываемому этим возбудителем. Этот вид распространен среди жвачных животных и, в основном, колонизирует плаценту. Спорадические аборт, которые были вызваны *C. abortus*, наблюдались у женщин, работавших с овцами, и получили название гестационный пситтакоз.

*Chlamydophila felis* вызывает риниты и конъюнктивиты у домашних кошек (*Felis catus*). Отмечены зоонозные инфекции, вызванные *C. felis*, у людей, проявлявшиеся в виде конъюнктивита.

*Chlamydophila caviae* впервые выделена из конъюнктивы морской свинки (*Cavia cobaya*) и впоследствии описана у нескольких животных данного вида. В лабораторных условиях было показано, что *C. caviae* способна вызывать инфекции половых органов, сходные по проявлениям с аналогичными заболеваниями у человека.

### 2.3.20.1. Заболевания, вызываемые *Chlamidia pneumoniae*

*Chlamidia pneumoniae* вызывает у человека поражение респираторного тракта. В большинстве случаев (у 70 % инфицированных) инфекция протекает бессимптомно, в других случаях — по варианту назофарингеальной и пневмонической форм поражений. Продолжительность инкубационного периода довольно длительна (точно не установлена). Бессимптомное носительство может продолжаться до года и более, что в ряде случаев приводит к появлению рецидивов и обострений хронического астматического бронхита, бронхиальной астмы, хронической обструктивной болезни легких. После исчезновения клинических признаков острого заболевания *Chlamidia pneumoniae* может быть выделена культуральным методом из носоглоточных смывов спустя даже 12 мес. Пневмонии, обусловленные *Chlamidia pneumoniae*, не имеют патогномичных симпто-

мов. Нередко наблюдаются случаи с тяжелым и упорным течением. Пневмония при первичном инфицировании более характерна для молодых лиц, а пневмония при реинфицировании чаще встречается среди пожилых людей [Позняк А. Л. и др., 2002].

Эпидемиологические исследования показали высокую распространенность инфекции *Chlamidia pneumoniae*. В США и Скандинавских странах с этим возбудителем связывают 10–20 % пневмоний и до 50 % респираторных инфекций в целом [Tan J., 1999]. Эпидемии в организованных коллективах регистрируются каждые 3–6 лет.

Отдельные патогенетические механизмы пневмонии, вызванной *Chlamidia pneumoniae*, до настоящего времени еще не изучены. Известно, что *Chlamidia pneumoniae* размножается в альвеолярных макрофагах, гладкомышечных и эпителиальных клетках человека, что часто приводит к параличу ресничек эпителиальных клеток.

Диагностика инфекций, обусловленных *Chlamidia pneumoniae*, вызывает определенные трудности, которые в первую очередь связаны с отсутствием простых и надежных лабораторных методов обнаружения внутриклеточных паразитов и особенностями иммунного ответа организма больного на патоген.

Для этиологического подтверждения инфекции используется целый ряд методов, имеющих, тем не менее, свои недостатки. РСК позволяет выявить специфические для *Chlamidia pneumoniae* антитела в сыворотке крови. Однако РСК высокоинформативна только для диагностики первичного инфицирования у молодых лиц, а при реинфицировании оценка результата исследования вызывает значительные трудности. Это обусловлено тем, что в силу распространенности инфекции антитела к *Chlamidia pneumoniae* в сыворотке крови могут присутствовать у 20–30 % здоровых лиц в возрасте до 15 лет и у 50–70 % людей более старшего возраста. Кроме того, несмотря на то, что титры антител имеют тенденцию к снижению после перенесенной инфекции, тем не менее на протяжении жизни могут скачкообразно увеличиваться. Результаты РСК бывают отрицательными в 90 % случаев реинфекции независимо от тяжести заболевания. Возможно, это обусловлено тем, что при реинфекции увеличивается количество антител классов IgG и IgA, которые не взаимодействуют с комплементом в РСК.

Любая инфекция, вызванная паразитами рода *Chlamidia*, сопровождается быстрым образованием антител к родоспецифическому

для всех паразитов LPS-антигену, которые могут быть выявлены методами микроиммунофлюоресценции и ИФА.

Антитела класса IgM к *Chlamidia pneumoniae*, которые образуются при первичном инфицировании и подтверждают этиологический диагноз заболевания даже при однократном исследовании, можно обнаружить в реакции НИФ или ИФА (чувствительность — 97 %, специфичность — 90 %). Однако рациональная антибактериальная терапия может препятствовать образованию антител и приводить к отрицательным результатам анализа. При реинфекции титр антител класса IgM к *Chlamidia pneumoniae* увеличивается незначительно, поэтому оценка результатов исследования спорна. Антитела классов IgG и IgA при использовании ИФА выявляются позже антител IgM при первичном инфицировании. Их совместное обнаружение в крови больного указывает на острую и/или манифестную хроническую инфекцию. Антитела класса IgA служат маркерами реинфицирования, так как присутствуют в крови на протяжении короткого периода времени. Антитела класса IgG имеют диагностическую ценность только при исследовании парных сывороток. Нарастание титра антител дает возможность предполагать наличие острой или манифестной инфекции. Диагностическая чувствительность обнаружения антител IgG для установления этиологии заболевания составляет 99 %, специфичность — 95 %, для антител IgA — 95 и 93 % соответственно. Динамика уровня антител к *Chlamidia pneumoniae* различных классов показана на рис. 2.21.

Для выявления антигенов *Chlamidia pneumoniae* в смывах из ротоглотки или бронхиальном смыве используют метод ИФА, НИФ и ПЦР. Оптимальный культуральный метод выделения *Chlamidia pneumoniae* еще не разработан.

Любое серологическое исследование, проводимое без одновременного использования ПЦР, а также при отсутствии парных сывороток носит ретроспективный, а не диагностический характер.

### 2.3.20.2. Заболевания, вызываемые *Chlamidia trachomatis*

**Трахома.** Хронический кератоконъюнктивит, который начинается с острых воспалительных изменений конъюнктивы и роговицы, приводя к образованию рубцов и слепоте.

В соскобах с конъюнктивы методом флюоресценции определяют хламидийные антигены в эпителиальных клетках. Чаще их

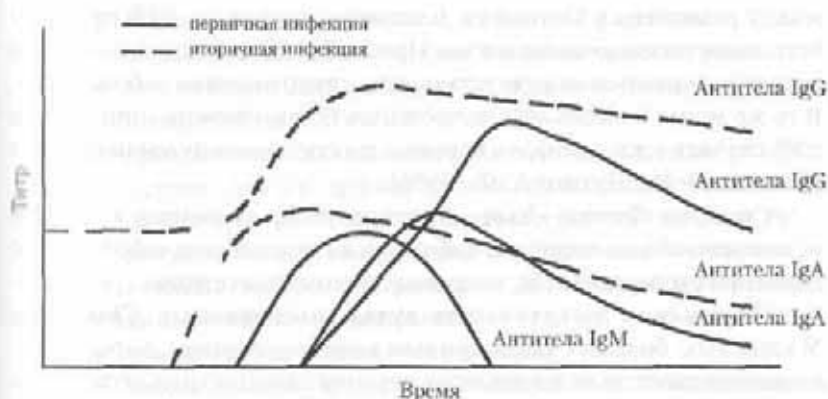


Рис. 2.21. Динамика уровня антител к *Chlamidia pneumoniae*

обнаруживают на ранних стадиях заболевания в верхней части конъюнктивы.

**Урогенитальный хламидиоз и конъюнктивит.** Частота обнаружения хламидий у мужчин с негонококковым уретритом составляет 30–50%. Инфицированность женщин, имеющих первую беременность, достигает 5–20%, делающих аборт — 3–18%. Среди больных, имеющих признаки цервицита, хламидийную инфекцию выявляют в 20–40% случаев, сальпингит — в 20–70%, инфекцию мочевых путей — в 5–10%. У больных со смешанной урогенитальной инфекцией хламидиоз в сочетании с гонореей наблюдается в 23,5% случаев, с трихомониазом — в 39,5%, с гонореей и трихомониазом — в 36,8% [Делекторский В. В. и др., 1996]. В последние годы инфекция нередко ассоциирована с микоплазменной и уреоплазменной инфекцией, гарднереллезом. По данным различных авторов, 6–7% детей уже при рождении оказываются инфицированными хламидиями.

Иммунологические типы *Chlamidia trachomatis* D–K — возбудители заболеваний, передаваемых половым путем, при которых могут развиваться и инфекционные поражения глаз (конъюнктивиты). У мужчин *Chlamidia trachomatis* являются возбудителями негонококковых уретритов, эпидидимитов, простатитов, проктитов, болезни Рейтера. У женщин *Chlamidia trachomatis* вызывают цервициты, сальпингиты, воспалительные заболевания органов малого таза, перигепатит, уретрит. В результате у мужчин и у женщин

может развиваться бесплодие. Считается, что около 80 % трубного бесплодия вызвано хламидиями. При любой локализации инфекции может развиваться соответствующая симптоматика заболевания. В то же время болезнь может протекать бессимптомно (примерно в 50 % случаев у женщин), но передаваться половым путем партнерам [Козлова В. И., Пухнер А. Ф., 1995].

**Синдром Фитца—Хью—Куртиса** также относится к ранним осложнениям хламидийной инфекции и представляет собой острый перитонит и перигепатит, сопровождающийся язвитом.

**Поражения дыхательных путей, вызываемых *Chlamidia*.** У взрослых, больных хламидийным конъюнктивитом, нередко появляются симптомы поражения верхних дыхательных путей (фарингит, ринит, отит и др.), которые развиваются, по-видимому, в результате распространения хламидийной инфекции через слезно-носовой канал. Пневмония у взрослых обычно не наблюдается. У новорожденных, заразившихся от матерей, через 2–12 нед. после родов возможны поражения респираторной системы вплоть до пневмонии.

**Венерическая лимфогранулема.** Эта форма хламидиоза распространена в тропических и умеренных зонах. Для нее характерно развитие гнойного пахового лимфаденита. Возбудителями являются *Chlamidia trachomatis* иммунологических типов L1–L3.

**Синдром Рейтера.** Для синдрома Рейтера характерна классическая триада: уретрит, конъюнктивит и артрит. При данном синдроме хламидии могут быть обнаружены в синовиальной жидкости. Наблюдается возрастание титра антител классов IgA, IgM, IgG в ходе развития активной инфекции суставов.

**Эндокардиты.** Клинически протекают молниеносно со значительным поражением клапанов аорты.

**Латентная инфекция** может проявиться спонтанно в форме малосимптомного осложнения. Например, у пациентов с синдромом Рейтера может развиваться идиопатический ирит. Такие больные редко сообщают о текущем или предшествовавшем уретрите, хотя в анамнезе некоторых из них имеются упоминания о цистите. Более чем у половины указанных пациентов отмечаются признаки хронического простатита и/или сакроилеита.

Первым и самым ответственным этапом при диагностике инфекционного процесса является забор материала у пациента.

**1. Методика забора материала из уретры у мужчин:**

- пациент не должен мочиться 1 ч до забора материала;
- ввести маленький капроновый тампон в уретру на 2–4 см, повернуть тампон на 360° и вынуть его;
- сразу же после забора материала поместить тампон на предметное стекло и, вращая тампон вдоль предметного стекла, равномерно распределить материал по его поверхности;
- высушить мазок на воздухе и доставить в лабораторию.

**2. Методика забора материала из цервикального канала с использованием цитощетки:**

- удалить ватой или тампоном слизь;
- ввести щеточку в цервикальный канал и повернуть ее на 360°, вынуть, не касаясь поверхности влагалища;
- поместить щеточку на предметное стекло и, вращая тампон вдоль предметного стекла, равномерно распределить материал по его поверхности;
- высушить мазок на воздухе и доставить в лабораторию.

**3. Методика приготовления мазков с конъюнктивы:**

- нанести местный анестетик на один или оба глаза;
- используя малый тампон, осторожно протереть им внутреннюю поверхность нижнего, а затем верхнего века, при заборе материала с обоих глаз вначале протирают менее пораженный глаз;
- сразу же после забора материала поместить тампон на предметное стекло и, вращая тампон вдоль предметного стекла, равномерно распределить материал по его поверхности;
- высушить мазок на воздухе и доставить в лабораторию.

**4. Для выявления *Chlamidia trachomatis* бактериологическим методом и с помощью ПЦР цитощеточку после взятия материала погружают в пробирку со специальной средой.**

В настоящее время диагностика хламидийных инфекций основана на выделении возбудителя и культуре клеток («золотой стандарт»). Бактериологический метод является одним из наиболее чувствительных и специфичных для диагностики хламидиоза. Однако он требует специальной методики (выращивание на культуре ткани), которая не всем доступна, поэтому используют методы, позволяющие обнаружить антиген *Chlamidia trachomatis* в исследуемом материале (ИФА, метод флюоресцирующих антител, ПЦР). Опреде-

ление антител в сыворотке крови к *Chlamidia trachomatis* является вспомогательным методом диагностики хламидиоза.

#### 2.3.20.2.1. Антитела IgA, IgM, IgG к *Chlamidia trachomatis* в сыворотке крови

**Диагностический титр антител к *Chlamidia trachomatis* в крови:** для IgM — 1:8 и выше, для IgG — 1:64 и выше.

Во время острой хламидийной инфекции и вскоре после нее наблюдается повышение титра антител IgA, IgM и IgG к *Chlamidia trachomatis* в крови. Инфицированный *Chlamidia trachomatis* организм продуцирует антитела, однако эти антитела имеют слабое защитное действие: обычно возбудители персистируют даже при наличии высоких титров антител. Раннее интенсивное лечение может угнетать синтез антител. Вследствие относительно большой «антигенной массы» хламидий при генитальных инфекциях сывороточные антитела IgG обнаруживаются довольно часто и в высоких титрах. Так, у детей с хламидийной пневмонией они могут быть очень высокими — 1:2000–1:4000.

Антитела класса IgM направлены против липополисахарида и основного белка наружной мембраны хламидий. Именно липополисахарид вызывает очень быстрый синтез специфических антител. Антитела IgM выявляются в острый период инфекции (уже через 5 дней после ее начала). Пик антител IgM приходится на 1–2-ю неделю, затем происходит постепенное снижение их титра (как правило, исчезают через 2–3 мес. даже без лечения). Наличие антител IgM свидетельствует об активности хламидиоза. Антитела IgM не проникают через плаценту, синтезируются еще у плода и относятся к собственным антителам новорожденных. Их наличие указывает на заражение (в том числе и внутриутробное) и свидетельствует об активном процессе. Уровень IgM-антител может повышаться при реактивации, реинфицировании или суперинфицировании. Период их полураспада — 5 дней.

Антитела класса IgA вырабатываются к основному белку наружной мембраны и белку с молекулярной массой 60 000–62 000 Да хламидий. Они выявляются в сыворотке крови через 10–14 дней после начала заболевания, и их уровень обычно снижается к 2–4 мес. в результате успешного лечения. При реинфекции титр антител IgA вновь возрастает. Если после курса лечения титр антител IgA не



снижается, то это указывает на хроническую или персистирующую формы инфекции. Выявление высокого титра антител класса IgA нередко свидетельствует о выраженном аутоиммунном процессе у больного и наиболее часто встречается у больных с синдромом Рейтера. У таких больных наличие антител IgA говорит о тяжелом течении заболевания.

Антитела класса IgG появляются через 15–20 дней после начала заболевания и могут сохраняться многие годы. Реинфекция сопровождается увеличением имеющегося титра антител IgG. Определение уровня антител к хламидиям в крови необходимо проводить в динамике, оценка результатов исследований, основанная на однократном исследовании, ненадежна. Антитела класса IgG проникают через плаценту и формируют антиинфекционный иммунитет у новорожденных. Высокие уровни IgG-антител защищают плод от инфекции, а также женщин от возникновения сальпингита после искусственного прерывания беременности; кроме того, они обеспечивают кратковременную защиту (до 6 мес.) от повторного заражения хламидиями. Период полураспада IgG-антител — 23 дня.

Для установления диагноза необходимо одновременно определять антитела классов IgA и IgG, при неясном результате IgA — дополнительно исследовать антитела IgM.

Новорожденные и их матери обследуются в 1–3-и сутки после родов и в случае отрицательного результата при наличии клинической картины заболевания — повторно на 5–7-е и 10–14-е сутки. Наличие антител класса IgM при повторном исследовании свидетельствует о врожденной инфекции (материнские антитела класса IgM через плаценту не проникают). Отсутствие у новорожденных антихламидийных антител не означает отсутствие хламидийной инфекции.

Определение антител к *Chlamidia trachomatis* в крови является вспомогательным тестом диагностики хламидиоза, так как из-за низкой иммуногенности у 50 % больных хламидиозом антитела не обнаруживают.

Определение антител IgA, IgM, IgG к *Chlamidia trachomatis* в крови используется для диагностики хламидиозной инфекции при:

- уретритах, простатитах, цервицитах, аднекситах;
- пневмонии, воспалительных заболеваниях легких;
- болезни Рейтера, синдроме Бехчета, инфекционных артропатиях.

**2.3.20.2.2. Экспресс-диагностика урогенитального хламидиоза *Chlamidia trachomatis* в материале из мочеполовых органов в норме отсутствуют.**

Метод основан на выявлении антигенов *Chlamidia trachomatis* в соскобах из уретры, цервикального канала и конъюнктивы методом ИФА с визуальной оценкой результата (чувствительность > 79 %, специфичность > 95 %). Данный метод основан на наличии у хламидий родоспецифического LPS-антигена. Этот метод позволяет проводить быстрый скрининг возбудителя, однако окончательный диагноз устанавливают при помощи метода флюоресцирующих антител или ПЦР. Результаты исследования выражают в виде положительного или отрицательного ответа. Чтобы получить удовлетворительные результаты исследования, необходимо соблюдать определенные правила: материал (соскоб) должен быть правильно взят и своевременно доставлен в лабораторию (в течение 2 ч).

Экспресс-диагностика урогенитального хламидиоза применяется при уретритах, простатитах, цервицитах, аднекситах.

**2.3.20.2.3. Определение *Chlamidia trachomatis* в материале методом флюоресцирующих антител**

***Chlamidia trachomatis* в материале из мочеполовых органов в норме отсутствуют.**

Принцип метода заключается в использовании моноклональных антител, меченных флюоресцирующим изотиоцианатом, против главного белка внешней мембраны хламидий, имеющегося во всех сероварах *Chlamidia trachomatis*, а также у элементарных и ретикулярных тел. Чувствительность данного метода достигает 90–95 %, а применение моноклональных антител обуславливает высокую специфичность — более 95 % при наличии клинических проявлений урогенитального хламидиоза.

При исследовании соскобов с конъюнктивы чувствительность метода флюоресцирующих антител составляет 70–95 %, специфичность — 98 %.

**2.3.20.2.4. Количественное определение антигена *Chlamidia trachomatis* в материале иммуноферментным методом**

**В норме антиген *Chlamidia trachomatis* в материале из мочеполовых органов отсутствует.**

Данный метод исследования дополняет спектр других методов диагностики хламидиоза и позволяет диагностировать до 15 серотипов хламидий. Метод ИФА позволяет количественно определить антиген хламидий в эндоцервикальном, уретральном отделяемом, а также в моче, в глазном отделяемом больных с целью диагностики заболевания. Специфичность данного метода составляет 97 %, чувствительность — 92 % и сравнимы с методом ПЦР — 99,8 и 94,6 % соответственно. Вместе с тем этот метод менее трудоемок. Он основан на прямом определении образовавшегося иммунокомплекса антигено—липосахаридный антиген хламидии. В качестве антигенов используются кроличьи антихламидийные антитела.

#### 2.3.21. Микоплазменная инфекция

В настоящее время описано несколько штаммов микоплазм. Микоплазмы — группа весьма разнообразных и характерных по морфологии бактерий размером 150–200 нм. Они не имеют плотной клеточной стенки и покрыты трехслойной цитоплазматической мембраной. Микоплазмы грамотрицательны и обладают крайне низкой чувствительностью к большинству красителей. Микоплазмы можно подразделить в зависимости от вызываемых ими патологических процессов у человека на шесть групп:

1. Микоплазмы — возбудители респираторных заболеваний, основной возбудитель *Mycoplasma pneumoniae*.
2. Микоплазмы, связанные с заболеваниями мочеполового тракта, основные возбудители — *Mycoplasma hominis* тип I, реже — *Mycoplasma hominis* тип II и *Ureaplasma urealyticum*.
3. Микоплазмы — возбудители ревматоидных процессов.
4. Микоплазмы — возбудители сложных воспалительных синдромов.
5. Микоплазмы, связанные с разнообразными по их локализации воспалительными процессами.
6. Микоплазмы — условные сапрофиты, встречающиеся в выделениях практически здоровых людей.

Здесь мы рассмотрим диагностику только первых двух групп заболеваний, из которых наибольший интерес представляет респираторный микоплазмоз.

### 2.3.21.1. Диагностика респираторного микоплазмоза

*Mycoplasma pneumoniae* является возбудителем заболеваний респираторного тракта человека, паразитируя на клеточных мембранах. Удельный вес респираторных микоплазмозов в общей группе респираторных заболеваний колеблется для разных групп населения от 35 до 40 %. Микоплазменные пневмонии составляют 10–17 % случаев от общего числа пневмоний. С интервалами в несколько лет могут развиваться эпидемии пневмонии, вызываемой *M. pneumoniae*, и при этом частота случаев развития заболевания может вдвое превышать ее обычный уровень. Лабораторная диагностика заболевания осуществляется бактериологическими и серологическими методами.

**Правила забора материала для исследования.** Клинический материал (лаважная жидкость, мазки из носоглотки) получают с помощью ватных тампонов, собранный материал наносят тонким слоем на поверхность чистого обезжиренного предметного стекла, подсушивают на воздухе и фиксируют.

#### 2.3.21.1.1. Выявление антигенов *Mycoplasma pneumoniae* в материале методом прямой иммунофлуоресценции

Полученный мазок с материалом от больного обрабатывают поликлональными антителами к цитоплазматической мембране *Mycoplasma pneumoniae*, меченных флуоресцирующим изотиоцианатом (ФИТЦ). При просмотре препарата в люминесцентном микроскопе в результате произошедшей реакции антиген–антитело определяется зеленая флуоресценция микоплазм. Положительная оценка результатов исследования предполагает выявление в препарате не менее 10 ярко-зеленых гранул, четко выявляющихся на красноватом фоне препарата. При получении меньшего количества светящихся гранул в препарате и отсутствии в препарате эпителиальных клеток исследование рекомендуется повторить. Если количество эпителиальных клеток в препарате достаточно, а количество светящихся гранул менее 10, результат отрицательный.

#### 2.3.21.1.2. Антитела к *Mycoplasma pneumoniae* в сыворотке крови

Серологическая диагностика основана на выявлении титра антител к *Mycoplasma pneumoniae* в сыворотке крови. Наиболее широкое распространение получили РИГА, РСК и метод ИФА. При исполь-

зовании РПГА и РСК кровь на исследование берут в первые дни болезни — до 6-го дня и спустя 10–14 дней, диагностическим считается нарастание титра антител в 4 раза и более. РСК позволяет обнаруживать только антитела класса IgG, а РПГА — общие антитела. Максимальное увеличение титра антител достигается через 4 нед. заболевания. Однократные титры выше 1:128 при использовании РПГА и  $\geq 1:64$  при РСК могут свидетельствовать о наличии заболевания. Вместе с тем высокие титры антител к *Mycoplasma pneumoniae* не являются показателями острой инфекции, так как могут сохраняться до года после перенесенного заболевания и снова повышаться при повторной инфекции.

Положительная реакция РСК (4-кратное увеличение уровня антител в парных сыворотках) бывает у 50 % пациентов, подъем уровня антител начинается через 7–9 дней после клинических проявлений, пик — на 3–4-й неделе и может держаться в течение 4–6 мес., затем постепенно снижается в течение 2–3 лет. Диагностическая чувствительность РСК в отношении инфекции *Mycoplasma pneumoniae* составляет 50–90 %.

Интерпретация результатов серологического исследования РПГА и РСК требует определенной осторожности, так как вследствие активации поликлональных В-клеток могут появиться неспецифические антитела; другие возбудители инфекционных заболеваний, включая ЦМВ, вирусы Эпштейна—Барр и кори могут вызывать развитие сходных эффектов, что затрудняет оценку результатов исследования.

При использовании ИФА можно определить антитела классов IgA, IgM и IgG. Этот метод более чувствителен и специфичен (92 и 95 % соответственно), чем РСК. Уровни антител IgM и IgG должны быть определены в острый период заболевания и через 2–4 нед. Антитела IgM появляются в течение 1-й недели заболевания и исчезают после выздоровления, однако в отдельных случаях могут сохраняться в крови до года. Уровень антител IgG начинает повышаться несколько позже, чем IgM, но остается повышенным дольше. Титр IgM выше 1:10 или 4-кратное увеличение уровней IgA- и/или IgG-антител в парных сыворотках указывают на инфекцию в настоящее время. Учитывая тот факт, что антитела IgM относительно быстро исчезают из крови, в ряде случаев для диагностики острой инфекции достаточно обнаружения их в единичном образце

сыворотки крови. Уровень IgA-антител у пожилых пациентов повышается более значительно, чем антител IgM, что необходимо учитывать при диагностике инфекции. При выздоровлении антитела IgM могут не определяться в сыворотке крови, а уровни IgA- и IgG-антител существенно снижаются. Реинфекция сопровождается быстрым подъемом уровня IgA- и/или IgG-антител. Время 4-кратного возрастания титра антимиоплазменных антител при последовательном исследовании проб крови, взятых в остром периоде заболевания и в период реконвалесценции, составляет 3–8 нед. Частота обнаружения антител IgM к *Mycoplasma pneumoniae* в зависимости от дня заболевания представлена на рис. 2.22.

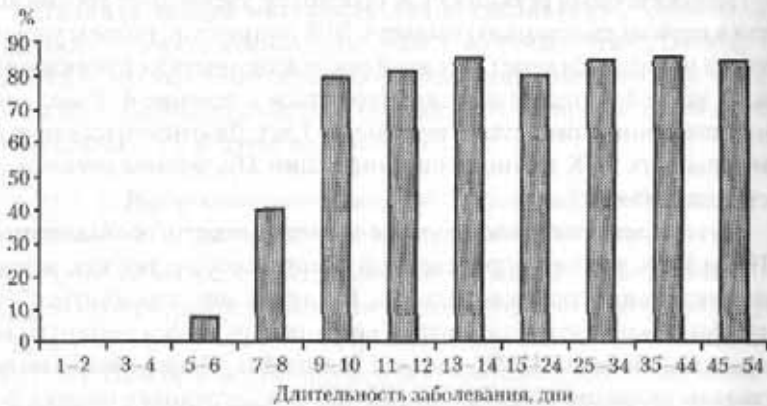


Рис. 2.22. Частота обнаружения антител IgM к *Mycoplasma pneumoniae*

Специфические антитела IgM к *Mycoplasma pneumoniae* обнаруживают у 80 % пациентов на 9-й день после появления первых симптомов заболевания. На 7–8-й день антитела IgM выявляют у 88 % больных в возрасте до 20 лет и у 40 % пациентов более старшего возраста. У больных с микоплазменной инфекцией старше 60 лет повышение уровня антител IgM может отсутствовать [Vicerforst T. et al., 1988].

Одновременное определение антител IgM и IgG позволяет выявить до 99 % всех микоплазменных инфекций (первичных и реинфекций), а исследование только антител IgM — 78 % первичных заболеваний [Sillis M., 1990].

Определение антител к *Mycoplasma pneumoniae* применяется для диагностики микоплазменной инфекции при хронических воспалительных заболеваниях легких, вторичных иммунодефицитных состояниях, в том числе СПИДе. Интерпретация результатов определения антител классов IgA, IgM и IgG к *Mycoplasma pneumoniae* представлена в табл. 2.22.

Таблица 2.22

**Интерпретация результатов определения антител классов IgA, IgM и IgG к *Mycoplasma pneumoniae***

Уровень антител к <i>Mycoplasma pneumoniae</i>			Интерпретация результатов
IgG	IgM	IgA	
Отрицательный	Отрицательный	Отрицательный	Инфекция <i>Mycoplasma pneumoniae</i> отсутствует
Отрицательный или положительный	Положительный	Отрицательный или положительный	Текущая инфекция
Положительный	Отрицательный	Отрицательный	Перенесенная или текущая инфекция
Отрицательный или положительный	Отрицательный	Положительный	Текущая или хроническая инфекция

**2.3.21.2. Диагностика микоплазменной инфекции органов мочеполовой системы**

Микоплазменные инфекции органов мочеполовой системы в настоящее время занимают ведущее место среди инфекций, передающихся половым путем. Они часто сочетаются с гонококками, трихомонадами и условно-патогенными микроорганизмами. Результаты бактериологических исследований показали, что микоплазмоз выделяется в виде моноинфекции у 12,8% больных, в сочетании с одним микроорганизмом — у 76,5% и в сочетании с 2–3 видами уретральной микрофлоры — у 10,7% [Козлова В. И., Пухлер А. Ф., 1995]. Факторами, обуславливающими патогенность микоплазм, является их способность прикрепляться к различным клеткам (эпителию, лейкоцитам, сперматозоидам) и оказывать токсическое и деструктивное действие. Обследование на микоплазмоз должно

проводиться у всех мужчин, женщин и детей, обратившихся к врачу по поводу воспалительных заболеваний мочеполовых органов, а также у всех половых партнеров или предполагаемых источников заражения микоплазмозом и у лиц с клиническими подозрениями на наличие заболевания. Необходимо учитывать, что характерной особенностью микоплазменной инфекции является существование латентной формы и микоплазмонительство в мочеполовых органах у мужчин и женщин.

Диагноз урогенитального микоплазмоза основывается на данных анамнеза, клинического обследования и результатах лабораторных исследований. Диагноз во всех случаях должен быть подтвержден выделением микоплазм в культуре (бактериологический метод). В последние годы наибольшее распространение в лабораторной диагностике микоплазмоза урогениталий нашли серологические методы — РСК и РНГА, позволяющие выявить нарастание титров антител в крови в процессе болезни при исследовании парных сывороток, метод иммунофлюоресценции, идентифицирующий микоплазмы в различном материале, взятом от больных, а также метод ПЦР, который обладает наиболее высокой чувствительностью и специфичностью.

**Правила забора материала для исследования.** Клинический материал берется с доступных исследованию слизистых оболочек (уретра, шейка матки, влагалище) с помощью ватных тампонов, ложки Фолькмана и других инструментов. Полученный материал наносят тонким слоем на поверхность чистого обезжиренного предметного стекла, подсушивают на воздухе и фиксируют. Для выявления микоплазм бактериологическим методом и с помощью ПЦР цитощеточку после взятия материала погружают в пробирку со специальной средой.

#### 2.3.21.2.1. Выявление антигенов *Mycoplasma hominis* в материале методом прямой иммунофлюоресценции

*Mycoplasma hominis* вызывает острые и хронические воспалительные заболевания урогенитального тракта, послеродовую лихорадку и сепсис, септические и спонтанные аборт. *Mycoplasma hominis* обнаруживают методом прямой иммунофлюоресценции при воспалительных заболеваниях урогениталий, по данным разных авторов, в 15–90 % случаев.



Полученный мазок с материалом от больного обрабатывают поликлональными антителами к цитоплазматической мембране *Mycoplasma hominis*, меченных ФИТЦ. При просмотре препарата в люминесцентном микроскопе в результате произошедшей реакции антиген–антитело определяется зеленая флюоресценция микоплазм. Положительная оценка результатов исследования предполагает выявление в препарате не менее 10 ярко-зеленых гранул, четко выявляющихся на красноватом фоне препарата. При получении меньшего количества светящихся гранул в препарате и отсутствии в препарате эпителиальных клеток исследование рекомендуется повторить. Если количество эпителиальных клеток в препарате достаточно, а количество светящихся гранул менее 10, результат отрицательный.

У мужчин микоплазмы (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*) чаще всего вызывают уретрит, у женщин — эндометрит и сальпингит, у новорожденных могут вызывать менингит, респираторные инфекции, септицемию. Однако микоплазмы являются условно-патогенными микроорганизмами, входят в состав нормальной микрофлоры слизистых урогенитального тракта, поэтому простое их обнаружение, особенно при отсутствии выраженных клинических проявлений, очень трудно оценивать. В настоящее время считают, что микоплазмы ответственны за инфекцию, только когда присутствуют в больших количествах. Следовательно, диагностически значимыми являются методы лабораторной диагностики, позволяющие не только идентифицировать микоплазмы, но и определить их концентрацию в исследуемом материале. Для этих целей фирмой Sanofi Pasteur Diagnostics разработаны диагностические наборы *Mycoplasma DUO*, позволяющие не только провести идентификацию микоплазм (*Mycoplasma hominis* и/или *Ureaplasma urealyticum*), но и установить их титр. Урогенитальные микоплазмы данной тест-системой идентифицируются и дифференцируются по их способности метаболизировать аргинин — *Mycoplasma hominis* и мочевины — *Ureaplasma urealyticum*. Титр микоплазм определяют согласно классическому методу разведений, патогенными их считают в том случае, если микоплазмы (*Mycoplasma hominis* или *Ureaplasma urealyticum*) выявляются в титре более чем  $10^4$  ССУ/мл (цветоменяющие единицы в 1 мл). Результаты исследования можно получить в течение 24–48 ч.

Другой проблемой, с которой сталкивается клиницист при обнаружении микоплазм в исследуемом материале в повышенном титре, — правильный выбор антибактериального препарата для проведения эффективного лечения. Среди микоплазм часто встречаются штаммы, резистентные к различным антибиотикам, поэтому необходимо одновременно с определением титра микоплазм устанавливать их чувствительность к антибактериальным препаратам. Для этих целей фирмой Sanofi Pasteur Diagnostics разработаны диагностические наборы SIR *Mycoplasma*, позволяющие определять чувствительность микоплазм к доксициклину, моноциклину, тетрациклину, джозамицину, эритромицину, клиндамицину, прistinамицину и офлоксацину. Результаты исследования можно получить в течение 48 ч.

#### 2.3.21.2.2. Выявление антигенов *Ureaplasma urealyticum* в материале методом прямой иммунофлюоресценции

*Ureaplasma urealyticum* относится к виду микоплазм. Название уреоплазмы происходит от способности этого вида микоплазм продуцировать фермент уреазу, расщепляющий мочевины с образованием углекислого газа и аммиака. *Ureaplasma urealyticum* вызывает воспалительные заболевания урогенитального тракта и может являться причиной развития бесплодия как у мужчин, так и у женщин. У мужчин *Ureaplasma urealyticum* способствует развитию простатита, уретрита и оказывает влияние на сперматогенез, что приводит к снижению фертильности. Бесплодие женщин обусловлено воспалительными процессами половых органов. Следует подчеркнуть, что *Ureaplasma urealyticum* принадлежит существенная роль в развитии бактериального вагиноза. По некоторым данным, частота выделения *Ureaplasma urealyticum* при бактериальном вагинозе составляет 46%. Забор материала на исследование, его проведение и оценка результатов аналогичны диагностике *Mycoplasma hominis*.

#### 2.3.22. Гонорея

Гонококки вызывают гнойное воспаление половых путей — гонорею. Трудность их обнаружения заключается в их слабой жизнеспособности, которая не позволяет широко пользоваться бактериологическим методом (дает положительные результаты в 20–30%

случаев). Метод окраски мазков по Граму из цервикального канала у женщин до начала антибактериальной терапии имеет чувствительность 45–65 %, 16 % — для мазков из уретры при специфичности более 90 %. Окраска мазков из уретры у мужчин имеет чувствительность и специфичность более 95 % при наличии клинических проявлений заболевания, без клинических проявлений — 69 и 86 % соответственно.

В последние годы широкое распространение нашли серологические методы диагностики. Они дают положительные результаты не только при острых формах заболевания, но и, что наиболее важно, при затяжных и хронических процессах, а также при осложненной гонорее.

#### 2.3.22.1. Экспресс-диагностика гонорей в отделяемом материале из уретры

Метод основан на выявлении антигенов нейссерий в соскобах из уретры, цервикального канала и конъюнктивы методом ИФА с визуальной оценкой результата. Данный метод, предполагающий наличие у нейссерий родоспецифического LPS-антигена, позволяет проводить быстрый скрининг возбудителя. Результаты исследования — положительный или отрицательный ответ. Чтобы получить удовлетворительные результаты, необходимо соблюдать определенные правила: материал должен быть правильно взят (соскоб) и своевременно доставлен в лабораторию (в течение 2 ч). Метод обладает высокой чувствительностью (более 80 %) и специфичностью (более 97 %).

Тест позволяет диагностировать гонококковую инфекцию при уретритах, простатитах, вагинитах, цервицитах, аднекситах.

## 2.4. ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ ПРОСТЕЙШИМИ

### 2.4.1. Амебиаз

Возбудитель амебиаза — *Entamoeba histolytica*, существует в трех формах: тканевой (форма magna), просветной (форма minuta) и цистной (форма cystica). Заболевание встречается повсеместно. Во многих районах здоровые носители составляют 14–20 % всего населения.

Диагноз кишечного амебиаза устанавливают на основании обнаружения возбудителя в фекалиях или тканях (исследуют биопсийный материал) с использованием специальных красителей. В кале антиген *Entamoeba histolytica* (адгезин) может быть обнаружен методом ИФА. Диагностическая чувствительность ИФА для обнаружения адгезина *Entamoeba histolytica* в кале составляет 96,9–100 %, специфичность — 94,7–100 %. В ряде случаев диагностика внекишечного амебиаза затруднена, так как тест-системы для обнаружения антигена *Entamoeba histolytica* могут давать ложноположительные результаты. В ряде случаев они обусловлены наличием других кишечных патогенов (*Ascaris lumbricoides*, *Blastocystis hominis*, *Clostridium difficile*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba coli*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella sonnei* и др.). Для разрешения таких случаев исследуют уровень специфических антител в сыворотке крови.

#### 2.4.1.1. Антитела к *Entamoeba histolytica* в сыворотке крови

**Антитела к *Entamoeba histolytica* в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Самыми чувствительными из серологических методов являются РНГА (чувствительность и специфичность при титре > 1:128 около 95 %), РИФ и ИФА (выявляет антитела IgM и IgG, более чувствителен и специфичен). Антитела к *Entamoeba histolytica* в сыворотке крови при использовании РНГА выявляют почти у всех больных с амёбным абсцессом печени (АСТ и АЛТ повышены в 2–6 раз, щелочная фосфатаза — в 2–3 раза) и у большинства лиц с острой амёбной дизентерией. Диагностическим считается нарастание титра антител при исследовании парных сывороток через 10–14 сут не менее чем в 4 раза или однократный титр выше 1:128. Антитела обычно не определяются у бессимптомных цистовыделителей (только в 9 % случаев), что свидетельствует о том, что для продукции антител требуется внедрение возбудителя в ткани, и у пациентов с иммуносупрессией. Повышенный титр антител может сохраняться в течение нескольких месяцев или лет после полного выздоровления.

Специфические антитела в РИФ с амёбным антигеном выявляют в 98–100 % случаев клинически выраженного амёбного абсцесса печени. РИФ дает положительный результат у 75–80 % больных инвазивным амёбиазом кишечника, особенно при молниеносном колите, амёбоме и перитоните. При интерпретации результатов

РИФ следует учитывать, что титр антител 1:320 и выше свидетельствует, как правило, о клинически выраженной, чаще внекишечной, форме амебиаза. В титре 1:80–1:160 антитела обнаруживают у больных амебиазом в момент обследования или переболевших в недавнем прошлом, а также в случае вялотекущих, стертых форм кишечного амебиаза. Титр антител 1:40 может быть выявлен у лиц с симптомами кишечного амебиаза при соответствующем эпиданамнезе и неотягощенном статусе больного. В этом случае эффективно исследование парных сывороток. Подъем уровня антител после лечения будет свидетельствовать в пользу амебной этиологии процесса. Ложноположительный результат в титре 1:40 может быть зарегистрирован у больных с системными и онкологическими заболеваниями. Низкий титр антител (1:20–1:40) нередко обнаруживают среди бессимптомных носителей возбудителя амебиаза. У переболевших последовательное неуклонное снижение уровня антител ниже 1:20 — показатель эффективности лечения, подъем титров и появление клинических симптомов следует оценивать как рецидив болезни.

Антитела IgM к *Entamoeba histolytica* в сыворотке крови при использовании ИФА выявляют почти у всех больных с амебным абсцессом печени (более чем у 90 %) и у большинства лиц с острой амебной дизентерией (в 84 % случаев). Они исчезают в течение 6 нед. после эффективного лечения. Антитела IgG выявляются примерно с такой же частотой, что и IgM, и указывают на текущую (при нарастании уровня антител) или ранее перенесенную (если уровень антител не изменяется) инфекцию.

При наличии симптомов диареи серологические тесты обычно положительны более чем у 90 % больных, при их отсутствии — менее чем у 50 %.

Определение антител к *Entamoeba histolytica* применяется для диагностики амебиазной инфекции (амебная дизентерия), наблюдения за динамикой заболевания и последствий инфекции.

#### 2.4.2. Токсоплазмоз

Токсоплазмоз относится к болезни, вызываемой облигатным внутриклеточным простейшим *Toxoplasma gondii*, который имеет сложный цикл развития. Окончательным хозяином токсоплазмы является до-

машиня кошка, а также дикие представители семейства кошачьих. При заражении кошки алиментарным путем паразиты проникают в эпителиальные клетки кишечника, где после нескольких бесполой генераций формируются макро- и микрогаметы. Половой процесс завершается образованием ооцист, которые выводятся во внешнюю среду. Человек является промежуточным хозяином паразита, но не выделяет возбудителя во внешнюю среду и не представляет опасности для окружающих. В организме человека токсоплазмы размножаются только бесполом путем и проходят две стадии развития:

- 1) эндоzoит — бурно размножающаяся внутриклеточная форма, вызывающая разрушение клеток и воспалительную реакцию; наличие эндоzoитов характерно для острой стадии токсоплазмоза;
- 2) цисты — шарообразная форма паразита, окруженная плотной оболочкой и приспособленная к длительному существованию в организме человека; они локализуются в головном мозге, сетчатке глаза, в мышцах и не вызывают воспалительной реакции; наличие цист характерно для хронической стадии токсоплазмоза; цисты продолжают медленно расти, их разрыв и разрушение приводит к рецидиву органных поражений.

Основной путь заражения токсоплазмозом пероральный (употребление сырого мяса, через грязные руки при контакте с кошками, при употреблении овощей и ягод, загрязненных почвой). Однако для клинической практики не менее важное значение имеет то, что существует конгенитальный путь заражения — внутриутробное заражение плода от матери через плаценту. Доказано заражение плода только от женщин с первичной инфекцией, приобретенной во время данной беременности. При заражении матери в I триместр беременности врожденный токсоплазмоз наблюдается в 15–20 % случаев и протекает тяжело. При инфицировании в III триместр беременности инфицированными оказываются 65 % новорожденных. У женщин с хроническим или латентным токсоплазмозом передача возбудителя плоду не доказана.

Только  $\frac{1}{3}$  детей, инфицированных во время внутриутробного развития, имеют при рождении клинически выраженный токсоплазмоз, в остальных случаях — это асимптомные формы токсоплазменной инфекции, которые через месяцы и годы дают поздние

клинические проявления. На ранних стадиях развития врожденный токсоплазмоз проявляется генерализованной формой заболевания. Во всех пораженных органах (печень, селезенка, миокард, легкие, надпочечники, головной мозг и др.) в местах нахождения токсоплазм возникают мелкие очаги некроза. На более поздних стадиях внутриутробного токсоплазмоза (через несколько месяцев или лет после рождения) преобладает поражение головного мозга в виде очагов некроза в коре больших полушарий. В дальнейшем очаги некроза рассасываются с образованием кист и их обызвествлением. Структурные изменения при приобретенном токсоплазмозе имеют аналогичные закономерности.

В случае если инфицирование происходит незадолго до рождения ребенка, то внутриутробно начавшаяся первая стадия болезни — стадия генерализации — продолжается и после рождения (характерны разнообразные клинические симптомы со стороны внутренних органов). При более ранних сроках инфицирования плода стадия генерализации может закончиться внутриутробно, тогда ребенок рождается уже с выраженными симптомами поражения ЦНС, в подострой стадии заболевания — с явлениями энцефалита и менингоэнцефалита. Если две первые стадии — генерализации и стадия энцефалита — прошли внутриутробно, ребенок может родиться с хронической формой токсоплазмоза. Для таких детей характерны грубые повреждения ЦНС и глаз. Поздние проявления токсоплазмоза, асимптоматичные при рождении, могут обнаружиться к концу 1-го года жизни (нарастающая гидроцефалия) или позднее (к 4–7 годам — хориоретинит, в 10–12 лет — имбецильность).

Для токсоплазмоза характерен ряд особенностей, которые следует учитывать при лабораторной диагностике этого заболевания.

Во-первых, возбудитель токсоплазмоза — *Toxoplasma gondii* — обладает низкой патогенностью и в большинстве случаев при попадании в организм человека не вызывает у него развития манифестного выраженного процесса, т. е. инфицирование организма, как правило, реализуется в носительстве паразита. Клинические проявления заболевания у человека чаще всего связаны с наличием у последнего первичного или вторичного иммунодефицита.

Во-вторых, широкая пораженность населения токсоплазмой (в США от 10 до 67% лиц в возрасте старше 50 лет) обуславливает и наличие значительного числа людей, положительно реагирующих на

токсоплазмоз в результате адекватного иммунного ответа макроорганизма на внедрившийся (персистирующий) инфект [Браунвальд Е., 1993]. Такое состояние имеет место как у абсолютно здоровых лиц (носительство), так и у больных другими, обычно ведущими, заболеваниями (микст-инфекция) и, конечно, у больных именно этой инфекцией (токсоплазмоз), которая у беременных женщин имеет тенденцию преимущественно к бессимптомному течению (клинически проявляется только у 20 % пациенток).

При токсоплазмозе следует различать токсоплазмозинфекцию (инфицированность, носительство) и токсоплазмозное заболевание (токсоплазмоз), поэтому основным в лабораторной диагностике является не сам факт обнаружения положительного иммунного ответа (антител), а уточнение характера течения процесса — носительство или болезнь. Комплексное определение антител классов IgM и IgG дает возможность быстро подтвердить или опровергнуть диагноз. Для выявления антител в сыворотке крови в настоящее время применяют целый ряд методов — с окраской Сейбин—Фельдмана (выявляет только антитела IgG), РИФ (IgM и IgG), РСК, РИГА и ИФА. Основным методом в настоящее время является ИФА, который позволяет выявлять антитела классов IgA, IgM и IgG.

В последние годы для подтверждения диагноза токсоплазмоза используют ПЦР. Материалом для исследования служит СМЖ, кровь, глазная жидкость. ПЦР применяют в пренатальной диагностике конгенитального токсоплазмоза, для чего исследуют амниотическую жидкость.

#### **2.4.2.1. Антитела IgM и IgG к токсоплазме в сыворотке крови** **Антитела класса IgM к токсоплазме в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Антитела IgM появляются в острый период инфекции (на 1-й неделе в титре 1:10), достигают пика в пределах месяца (на 2–3-й неделе после заражения) и исчезают через 2–3 мес. (самое раннее — через 1 мес.). Они выявляются у 75 % врожденно инфицированных новорожденных и у 97 % инфицированных взрослых. Отрицательные результаты определения антител IgM позволяют исключить острую инфекцию, длительностью менее 3 нед., но не исключают инфекцию более продолжительного срока. При реинфекции уровень антител IgM вновь повышается (при наличии иммунодефи-



цита не повышаются, в таких случаях для диагностики показана компьютерная или магнитно-резонансная томография головного мозга, которые выявляют множественные плотные округлые очаги). Наличие в крови пациентов РФ и/или АНА может привести к ложноположительным результатам исследования. У иммуноскомпromетированных лиц антитела IgM в острый период инфекции обычно отсутствуют.

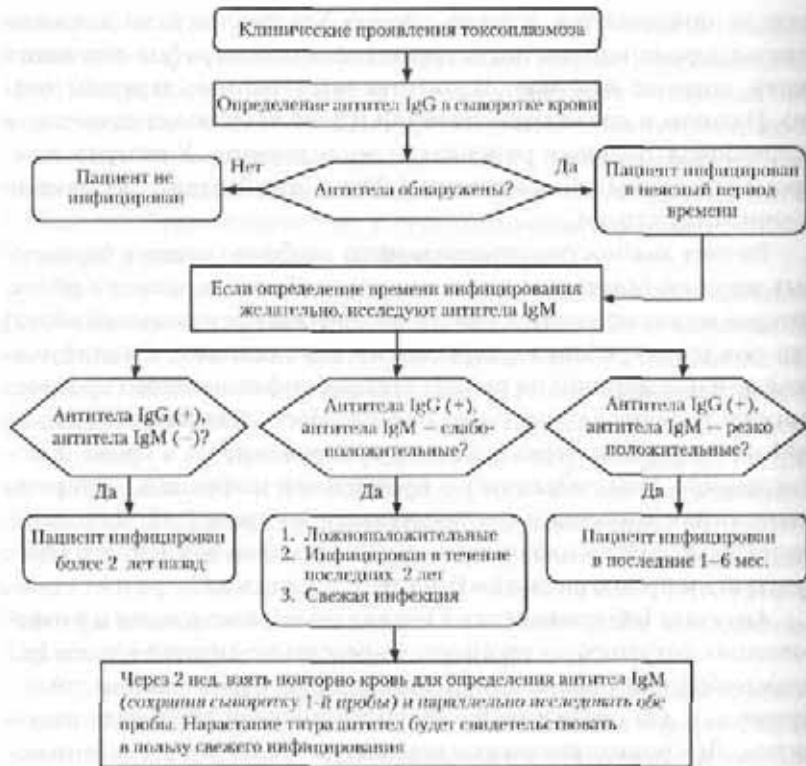
Ранняя диагностика токсоплазмоза особенно важна у беременных женщин вследствие риска внутриутробного заражения плода, которое может привести к гибели плода (самопроизвольный аборт) или рождению ребенка с серьезными поражениями. Специфическое лечение женщин на ранних стадиях инфекционного процесса снижает риск поражения плода на 60 %. Поскольку антитела класса IgM не проникают через плаценту, обнаружение их в крови новорожденного свидетельствует о врожденной инфекции. Алгоритм диагностики токсоплазмоза представлен на схеме 2.12. Для выявления врожденного токсоплазмоза у плода и новорожденного более чувствителен «ловущечный» ИФА на IgA-антитела.

Антитела IgG появляются в период реконвалесценции и у переболевших сохраняются до 10 лет. Определение антител класса IgG применяется для диагностики периода реконвалесценции токсоплазмоза и для оценки напряженности поствакцинального иммунитета. Ложноположительные результаты исследования можно получить у больных СКВ и ревматоидным артритом.

У лиц с положительными титрами антител на токсоплазмоз рекомендуется повторное проведение серологических исследований через 10–14 сут для установления динамики развития болезни. Отсутствие увеличения титров антител свидетельствует о хроническом токсоплазмозе. Увеличение титров на 3–4 разведения сыворотки свидетельствует об активном течении инвазии.

Показания для назначения серологических исследований на токсоплазмоз определены в Методических указаниях «Серологические методы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний», утвержденных 14 ноября 2002 г.:

- беременные женщины по показаниям, с сероконверсией;
- больные токсоплазмозом, получающие специфическое лечение;
- дети, рожденные от матерей с отягощенным анамнезом по токсоплазмозу;



**Схема 2.12.** Алгоритм обследования пациентов с подозрением на токсоплазмоз

- эпидзначимые контингенты: ветеринарные и другие специалисты, связанные в работе с кошками и собаками;
- больные с клиническими проявлениями, характерными для токсоплазмоза.

#### 2.4.2.2. Определение avidности антител класса IgG к *Toxoplasma gondii*

Определение avidности антител класса IgG к *Toxoplasma gondii* используют в клинической практике для подтверждения или исключения факта недавнего первичного инфицирования *Toxoplasma gondii*. Проведение этого теста особенно важно при обследовании

беременных женщин, поскольку риск патологии развития плода существенно выше при остром первичном инфицировании во время беременности, по сравнению с хронической инфекцией и реактивацией латентной инфекции. Определение avidности антител класса IgG к *Toxoplasma gondii* в настоящее время в ряде стран введено в клиническую практику в качестве дополнительного (в ряде стран обязательного) метода исследования при установлении срока первичного инфицирования при подозрении на токсоплазмоз у беременных женщин.

Выявление в сыворотке крови одновременно IgG- и IgM-антител к *Toxoplasma gondii* обычно свидетельствует о недавнем первичном инфицировании, поскольку срок исчезновения IgM-антител составляет в среднем 2–3 мес. от начала инфекционного процесса. Однако период циркуляции антител класса IgM может значительно варьировать в зависимости от индивидуальных особенностей иммунного ответа организма. При инфицировании *Toxoplasma gondii* следовые количества антител класса IgM в некоторых случаях выявляют в течение 6–12 мес. и более. В связи с этим их присутствие в крови беременной женщины не всегда является подтверждением первичного инфицирования в период беременности. Кроме того, специфичность тест-систем для обнаружения антител класса IgM не является абсолютной. У ряда пациенток возможны неспецифические ложноположительные результаты. Выявление в крови высокоавидных антител класса IgG в таких ситуациях позволяет исключить недавнее первичное инфицирование. Низкоавидные IgG-антитела, в среднем, выявляют в течение 3–5 мес. от начала инфекции (зависит от метода определения), но иногда они могут синтезироваться и в течение более длительного срока. Само по себе обнаружение низкоавидных IgG-антител к *Toxoplasma gondii* не является безусловным подтверждением факта свежего инфицирования, но служит дополнительным подтверждающим тестом наряду с данными анамнеза и клинической картиной. При реактивации инфекции выявляются специфические антитела класса IgG к *Toxoplasma gondii* высокой avidности.

В основе тестов на определение avidности лежит метод дифференциации высоко- и низкоавидных антител с помощью обработки комплексов антиген–антитело раствором мочевины, вызывающим денатурацию белка. После такой обработки связь низкоавидных

антител с антигеном нарушается. Авидность антител класса IgG в пробе оценивают с помощью расчетного показателя — индекса авидности, который представляет собой отношение результата иммуноферментного определения концентрации IgG-антител в пробе, подвергнутой обработке мочевиной, к результату измерения концентрации IgG-антител в пробе, не обработанной денатурирующим агентом.

Оценка результатов проводится в соответствии с приведенными ниже данными:

- индекс авидности антител класса IgG к *Toxoplasma gondii*  $< 0,2$  означает присутствие низкоавидных антител IgG и не позволяет в этом случае исключить первичное инфицирование *Toxoplasma gondii* в течение последних 4 мес.;
- индекс авидности антител класса IgG к *Toxoplasma gondii*  $\geq 0,3$  указывает на присутствие высокоавидных антител класса IgG и позволяет исключить первичное инфицирование *Toxoplasma gondii* в последние 4 мес.;
- значения индекса авидности антител класса IgG к *Toxoplasma gondii* от 0,2 до 0,3 соответствуют пограничной авидности антител IgG в пробе и требуют повторного исследования через 1–2 мес.

Вместе с тем клиницист должен понимать всю сложность и ответственность оценки результатов определения авидности антител класса IgG к *Toxoplasma gondii* для принятия решения о сроках инфицирования беременных женщин. Поэтому данные первого теста необходимо подтвердить при повторном тестировании.

### 2.4.3. Лямблиоз

Возбудитель лямблиоза — *Lambliа intestinalis* (*Giardia lamblia*) относится к типу жгутиковых. В организме человека лямблии обитают в двенадцатиперстной и тощей кишке в вегетативной форме и в виде цисты. Лямблиоз встречается повсеместно, лямблии выявляются у 10–12 % практически здорового взрослого населения и у 50–80 % детей [Коротяев А. И., Бабичев С. А., 1998]. При попадании лямблий в организм человека они размножаются в огромных количествах и заселяют слизистую оболочку двенадцатиперстной и тощей кишки, приводя к нарушению перистальтики, пристеночного пищеварения

и всасывания. При этом выделяются эндогенные факторы воспаления (гистамин, серотонин, простагландины) и аллергические продукты метаболизма лямблий. Развивается дисфункция кишечника (диарея, иногда с примесью крови). В процесс могут вовлекаться желчевыводящие пути и желчный пузырь (холангит, холецистит), а также поджелудочная железа.

Для диагностики заболевания наиболее часто исследуют испражнения (обнаружение цист и вегетативных форм возбудителя) и желчь, полученную при дуоденальном зондировании (частота обнаружения лямблий не превышает 50%). В связи с непостоянным выделением паразита с испражнениями необходимо проводить повторные анализы. В последние годы разработаны тест-системы на основе ИФА, которые позволяют выявлять поверхностный антиген цист лямблий в кале. Диагностическая чувствительность метода составляет 90 %, специфичность — 100 %. Для получения положительного результата анализа достаточно наличия в пробах кала 10–15 цист лямблий. В ряде случаев могут наблюдаться ложноположительные результаты исследования при наличии в кале других возбудителей паразитарных инфекций (*Cryptosporidium*, *Dientamoeba fragilis*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmani*, *Diphyllobothrium latum*, *Clonorchis* и др.).

В трудных клинических ситуациях используют серологические методы, такие как реакция прямой иммунофлюоресценции и ИФА, для обнаружения специфических антител в сыворотке крови.

#### 2.4.3.1. Определение антител к антигенам лямблий в сыворотке крови

Антитела к антигенам *Lamblia intestinalis* в сыворотке крови в норме отсутствуют.

В последнее время для диагностики лямблиоза используют метод ИФА, который позволяет определить в крови больного уровень специфических антител к антигенам лямблий. Существующие тест-системы ИФА позволяют выявлять отдельно специфические антитела различных классов (IgM, IgA, IgG) или суммарные антитела. Антитела класса IgM к антигенам лямблий обнаруживают в крови на 10–14-е сутки после инвазии. Затем появляются антитела класса IgG и сохраняются на достаточно высоком уровне практически на всех стадиях заболевания. После полной элиминации паразита уро-

вень специфических (IgG) и суммарных антител резко снижается в течение 1–2 мес. Антитела исчезают из крови полностью в течение 2–6 мес.

#### 2.4.4. Криптоспоридиоз

Возбудителем криптоспоридиоза являются мелкие кокцидии (простейшие) семейства *Cryptosporidae*, паразитирующие в поверхностном слое эпителия слизистой оболочки тонкой кишки. Криптоспоридиоз — протозойная инвазия человека и животных. О криптоспоридиозе следует думать при появлении поноса у каждого больного с нарушениями иммунного статуса. Гиподиагностика заболевания связана с несовершенством методик окраски ооцист криптоспоридий в кале. Результаты определения антител к криптоспоридиям в сыворотке крови при эпидемиологических исследованиях показали, что антитела обнаруживаются у 25–35 % лиц в популяциях индустриально развитых стран и у около 65 % — в развивающихся странах [Weber R., 1999]. Серологическая диагностика заболевания основана на выявлении антигенов *Cryptosporidae* в кале методом прямой флюоресценции с применением моноклональных антител, а также наблюдении за динамикой титра антител в сыворотке крови методом ИФА (в основном при эпидемиологических исследованиях). В последние годы для обнаружения *Cryptosporidium parvum* в кале все более активно используется метод ПЦР [МакЛаклин Д., 2000].

##### 2.4.4.1. Определение антигенов *Cryptosporidae* методом прямой флюоресценции в материале

**Антигены *Cryptosporidae* в исследуемом материале в норме отсутствуют.**

Исследуются фекалии больных немедленно после их получения на наличие ооцист криптоспоридий методом РИФ. Метод является весьма чувствительным (95 %) и специфичным. При выявлении в мазке даже одного флюоресцирующего пятна исследование считается положительным. Сероконверсия происходит в пределах 60 дней острой фазы инвазии как у больных с нормальным иммунным статусом, так и у больных СПИДом.

В методе ИФА для обнаружения криптоспоридий в кале используют моно- и поликлональные антитела к поверхностному антигену *Cryptosporidae*, что повышает вероятность обнаружения возбудителя. Диагностическая чувствительность ИФА составляет 98,5%, специфичность — 93,1%.

#### 2.4.5. Малярия

Тропическая малярия, вызываемая *P. falciparum*, представляет наибольшую опасность для жизни человека и требует проведения неотложной терапии. До последнего времени диагностика заболевания основывалась на исследовании мазка крови и толстой капли. В настоящее время все активнее применяются иммунологические экспресс-тесты диагностики, которые хотя и уступают традиционным методам по своей чувствительности и специфичности, но достаточно информативны для использования в клинической практике. К таким экспресс-тестам относятся: Para Sighr-F (Becton Dickinson), ICT (ICT-Diagnostics), KAT-Quick Malaria Tests (Cape Biotech (Pty) Ltd.), Malaria Check Strip (Sorachim) и др. Все тесты служат для качественной диагностики тропической малярии. В основе метода лежит иммунохроматографическая реакция (обычно моноклональные антитела нанесены на мембрану из нитроцеллюлозы) с антигеном HRP-2 (протеин-2 с высоким содержанием гистидина) *P. falciparum*. Экспресс-тесты не дают перекрестной реакции с другими видами малярии. Результат можно получить в течение 15 мин.

Помимо тестов для обнаружения антигенов малярии в крови разработаны тест-системы для определения уровня антител классов IgA, IgM и IgG одновременно к *P. falciparum* и *P. vivax* в сыворотке крови на основе методов иммунохроматографии и ИФА. Однако клиническая оценка результатов этих методов сложна. Для первичной диагностики необходимо оценивать динамику уровня антител, а для оценки эффективности лечения использовать результаты невозможно из-за длительного сохранения антител в крови, поэтому обычно их применяют для эпидемиологического скрининга. При использовании метода ИФА, который позволяет определять уровень антител класса IgG, необходимо помнить, что уровень антител начинает повышаться в крови спустя 2–3 нед. от начала клинических проявлений заболевания (чувствительность и

специфичность — 99%) и сохраняется повышенным до 6 мес. При однократном исследовании диагностическим считается титр 1:256 и выше.

#### 2.4.5.1. Антиген малярии HRP-2 в крови

**Антиген малярии HRP-2 в крови в норме отсутствует.**

Обнаружение антигена HRP-2 *P. falciparum* в крови больного малярией экспресс-тестами зависит от плотности паразитемии. При уровне паразитемии 8–64 в 1 мкл крови тесты обычно отрицательные, при паразитемии 72–96 в 1 мкл — слабоположительные, при более высокой концентрации *P. falciparum* в крови тесты дают положительную реакцию. Чувствительность экспресс-тестов составляет 91,1–98,6%, специфичность — 95,1–99,7% [Попов А. Ф. и др., 2002].

При использовании качественных тестов для оценки эффективности лечения следует иметь в виду, что антиген HRP-2 *P. falciparum* сохраняется в крови до 15 дней даже при успешной терапии, поэтому применять тесты ранее этого срока не имеет смысла.

Метод ПЦР может выявлять ДНК *P. falciparum* при уровне паразитемии 50 в 1 мкл крови и идентифицировать лекарственно-резистентные формы.

## 2.5. ДИАГНОСТИКА ПАРАЗИТАРНЫХ ИНФЕКЦИЙ

### 2.5.1. Эхинококкоз

Эхинококкоз — тканевой гельминтоз, вызываемый личиночными стадиями *Echinococcus granulosus* или *E. multilocularis*. У человека *E. granulosus* вызывает образование однокамерных кист, главным образом в печени и легких (гидатидозный эхинококкоз), в то время как *E. multilocularis* — образование многокамерных (альвеолярных) очагов поражения (многокамерный эхинококкоз), обладающих способностью к инвазивному росту в прилегающих тканях. Диагностика заболевания представляет определенные трудности. Если при разрыве эхинококковой кисты или истечении из нее жидкости развивается анафилактическая реакция с эозинофилией и повышением содержания IgE, это позволяет заподозрить эхинококкоз. Однако эозинофилия отмечается менее чем в 25% случаев.



### 2.5.1.1. Антитела к эхинококку в сыворотке крови

**Антитела к эхинококку в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Для диагностики эхинококкоза разработаны серологические методы диагностики: РНГА, РСК, реакция латекс-агглютинации с антигеном из жидкости эхинококковых пузырей и ИФА.

Наиболее эффективными для диагностики эхинококкозов являются реакции РНГА и ИФА. Однако использование этих методов ограничено тем, что у многих носителей эхинококковых кист иммунный ответ не развивается и антитела в крови не образуются. РНГА дает положительные результаты у 90 % больных с кистами в печени и только у 50–60 % больных с поражением легких. Высокие титры антител в РНГА (выше 1:256) имеют чувствительность 90 % и специфичность менее 100 % в случаях с дочерними пузырями кист в печени и на брюшине, 60 % чувствительности — при поражении легких и костей, 10 % — ложноположительные результаты (цистицеркоз, болезни коллагена, злокачественные новообразования). После хирургического удаления кист определение антител к эхинококку в сыворотке крови используют для контроля за радикальностью проведенной операции. Исчезновение антител через 2–3 мес. после операции говорит о радикальности удаления кисты, снижение уровня антител и последующий рост их уровня в послеоперационном периоде — о рецидиве кисты. В ряде случаев после успешного хирургического лечения повышенные титры могут держаться годами. При одновременном использовании РНГА и ИФА выявляют до 90–98 % инвазированных. Совпадение двух реакций регистрируется в 90 % случаев. Максимальная выявляемость эхинококкозов серологическими методами (до 98 %) наблюдается при локализации эхинококковых пузырей живого паразита в печени, брюшной полости и забрюшинном пространстве, а также при множественном и сочетанном поражении. При поражении легких, а также при наличии 1–3 кист небольшого (до 2 см) размера эффективность серологической диагностики ниже и колеблется в пределах 70–80 %. Наименее информативны серологические методы диагностики при эхинококкозе нервной (спинной или головной мозг, глаз), мышечной или костной ткани, а также при погибшем и обызвествленном паразите. В этом случае чувствительность серологических методов не превышает 40 %. Высокие титры антител могут быть выявлены

у больных с активным процессом, чаще локализованным в органах брюшной полости. В случае легочной локализации кисты эхинококка (даже при наличии кисты больших размеров) титры антител могут быть низкими.

Низкие титры антител к эхинококку могут быть обнаружены в ранний период болезни (кисты диаметром до 2 см), а также при обызвествленных оболочках ларвоцист; резкое снижение титров может наблюдаться при далеко зашедшем процессе, в поздней, неоперабельной стадии эхинококкозов.

При использовании серологических методов диагностики эхинококкозов возможны ложноположительные результаты при наличии в крови неспецифических антител, сходных по структуре с антителами к эхинококку. Наиболее часто ложноположительные результаты выявляют при соматических и инфекционных заболеваниях, сопровождающихся обширными деструктивными процессами в пораженных органах (цирроз печени, туберкулез легких и других тканей, онкологические заболевания). Ложноположительные реакции возможны при других гельминтозах (*онисторхоз, фасциолез и цистицеркоз*).

Серологические исследования используют для первичной диагностики эхинококкозов, оценки результатов оперативного и консервативного лечения и наблюдения за больными в динамике, а также для раннего выявления рецидивов заболевания. Локализация и жизнеспособность ларвоцист эхинококка гидатидозного и альвеолярного, интенсивность инвазии, а также состояние иммунной системы хозяина влияют на интенсивность антителообразования и выявляемость инвазированных с помощью серологических реакций.

Показания для назначения серологических исследований определены в Методических указаниях «Серологические методы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний», утвержденных 14 ноября 2002 г.:

- наличие объемного образования или кист в печени и других органах;
- эпидзначимые контингенты — лица, относящиеся к группам риска (охотники и члены их семей, зоотехники, чабаны и пастухи, работники кожевенных предприятий т. д.), лица, проживающие в очагах эхинококкозов.

## 2.5.2. Токсокароз

Токсокароз — широко распространенное заболевание. Возбудитель токсокароза — нематода *Toxocara canis*, которая обычно паразитирует у собак, волков, лисиц и других представителей семейства псовых. Инфицированность этих животных у нас в стране составляет от 10 до 70 %, среди людей число больных составляет 380 человек на 100 000 населения. Клинические симптомы заболевания разнообразны. В зависимости от преобладающих симптомов выделяют висцеральную форму — 23 % случаев и глазную — 67 % случаев [Дедкова Л. М., 1996]. Токсокароз по клиническим проявлениям нередко напоминает аскаридоз. Наиболее постоянным симптомом токсокароза является высокая эозинофилия периферической крови — до 60–80 %. При тяжелых формах заболевания могут быть обнаружены гранулематозные поражения различных органов и тканей.

Диагностика токсокароза сложна. Это обусловлено тем, что в организме человека токсокары не достигают половозрелого состояния, поэтому нельзя выявить взрослых особей или их яйца в образцах кала или дуоденального содержимого, как при других гельминтозах.

### 2.5.2.1. Антитела к *Toxocara canis* в сыворотке крови

**Диагностический титр антител к *Toxocara canis* в сыворотке крови 1:800 и выше.**

Основным методом диагностики токсокароза является обнаружение антител к *Toxocara canis* в сыворотке крови методом ИФА с антигеном токсокар при исследовании сыворотки крови у лиц с характерным комплексом симптомов: лимфаденопатия, гепатомегалия, бронхит, бронхиальная астма неясного генеза, уртикарная сыпь на фоне эозинофилии крови, лейкомоидная реакция эозинофильного типа с характерным эпиданамнезом (например, геофагия) и др. Степень повышения уровня антител в крови тесно коррелирует с тяжестью течения заболевания. У пациентов, имеющих симптоматику, характерную для токсокароза, титры антител в ИФА 1:800 и выше подтверждают клинический диагноз. У лиц при отсутствии клинической симптоматики титр антител в 1:400 и ниже свидетельствует о контакте человека с возбудителем без развития

патологического процесса. Ложноположительные результаты анализа могут наблюдаться у лиц с системными лимфопролиферативными заболеваниями и иммунодефицитом. Это определяет необходимость проведения анализа клинической картины заболевания. Ложноотрицательные и сомнительные результаты анализа могут наблюдаться у лиц с поражением токсокарами глаз в результате слабого антигенного воздействия. Лиц с низким положительным результатом ИФА (титр 1:200–1:400) ставят на диспансерный учет и каждые 3 месяца проводят серологическое исследование. При появлении клинической картины заболевания и повышении титров специфических антител врач принимает решение о необходимости проведения лечения. Повторные исследования уровня антител в крови больного позволяют оценивать эффективность проводимого лечения — об эффективности свидетельствует снижение уровня антител.

### 2.5.3. Трихинеллез

Возбудитель трихинеллеза — нематода *Trichinella spiralis*. Заболевание сопровождается лихорадкой, развитием отеков, миалгией и эозинофилией в крови. При тяжелом течении возможно поражение миокарда, ЦНС.

#### 2.5.3.1. Антитела к *Trichinella spiralis* в сыворотке крови

**Антитела к *Trichinella spiralis* в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Для ранней серологической диагностики трихинеллеза желательна одновременная постановка двух серологических реакций — РНГА и ИФА. Совпадение их результатов подтверждает диагноз. Чувствительность ИФА и РНГА достигает 90–100 %, специфичность — 70–80 %. Результаты двух реакций совпадают в 80–90 % случаев. Специфические антитела появляются в крови инфицированного в период миграции личинок трихинелл и концентрации их в мышцах. Их выявление в серологических реакциях у лиц, заразившихся при употреблении в пищу мяса домашних животных (свиньи) с высокой или средней интенсивностью инвазии трихинеллами (200–500 личинок на 1 г мяса), происходит на 15–20-е сутки после заражения. При меньшей интенсивности инвазии сроки

выявления антител удлинняются. При заражении людей от диких животных (медведь, кабан, барсук, нутрия) антитела выявляются спустя 4–6 нед. В течение 2–4 мес. титр антител может нарастать, а спустя 4–5 мес. после заражения начинает снижаться, однако остается на диагностическом уровне не менее 1,5 лет, а при интенсивной инвазии — до 2–2,5 лет и более. У больных с подозрением на трихинеллез при первичном получении отрицательного или сомнительного результата реакции исследование крови необходимо повторить через 10–14 дней, нарастание титров подтверждает инвазию трихинеллами. Серологический диагноз трихинеллеза ставится на основании 4-кратного увеличения титра антител. При невозможности исследования сыворотки крови в начале заболевания исследуется сыворотка крови, полученная в период реконвалесценции.

Специфическая терапия трихинеллоцидными препаратами вызывает подъем титров антител, которые сохраняются в диагностических значениях на протяжении 6–12 мес., а затем снижаются. У лиц с подозрением на трихинеллез и получавших превентивное лечение серологическое обследование проводят через 2–3 нед. после лечения. У переболевших трихинеллезом антитела сохраняются в течение длительного времени — от 2 лет и более.

Ложноположительные результаты анализа чаще наблюдаются при острой фазе ряда гельминтозов (описторхоз, клонорхоз и др.), в связи с чем для дифференциального диагноза требуется тщательное изучение клинико-эпидемиологического анамнеза.

При массовых обследованиях населения на трихинеллез сыворотки крови исследуют в одном диагностическом разведении методом скрининга, как указывается в инструкциях к тест-системе ИФА и диагностическому набору РНГА. В случае положительного результата анализа у обследованных и при наличии у них клинической картины трихинеллеза сыворотку титруют в последовательных двукратных разведениях, начиная от диагностического.

Показания для назначения серологических исследований определены в Методических указаниях «Серологические методы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний», утвержденных 14 ноября 2002 г.:

- наличие клинических симптомов (лихорадка неясного генеза, отек лица, миалгия, эозинофилия и др.); при миокардитах,

менингоэнцефалитах неясного генеза, при лейкомоидной реакции по эозинофильному типу неясного генеза у пациентов, употреблявших в пищу свинину, медвежатину, мясо кабана и других животных — потенциальных хозяев трихинелл;

- расшифровка случаев групповой заболеваемости трихинеллезом (вспышки) и выявление контактных на эндемичных территориях (на неэндемичных территориях — при наличии в эпиданамнезе указаний на употребление в пищу мяса и мясопродуктов из свинины, медвежатины и других животных — потенциальных хозяев трихинелл).

#### 2.5.4. Описторхоз

Возбудитель описторхоза — трематода *Opisthorchis felineus*. Трематодоз печени протекает на ранней стадии в виде острого аллергоза с высокой эозинофилией крови, на поздней — с преимущественным поражением гепатобилиарной системы, с умеренно повышенным или нормальным уровнем эозинофилов. Серологическая диагностика (используют ИФА и РНГА) описторхоза на ранней стадии заболевания, до начала яйцепродукции паразитом, является единственным методом лабораторной диагностики, при хроническом описторхозе — вспомогательным методом, при котором требуется подтверждение паразитологическими методами диагностики.

##### 2.5.4.1. Антитела к возбудителю описторхоза в сыворотке крови

**Антитела к возбудителю описторхоза в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Чувствительность методов ИФА и РНГА для диагностики заболевания в острую фазу приближается к 100 %, в хронической фазе заболевания — к 70 % и зависит от интенсивности инвазии. Антитела класса IgM появляются в крови спустя 1 нед. после инфицирования, достигают максимальных значений через 1,5–2 нед., а через 6–8 нед. начинают быстро снижаться. Антитела класса IgG начинают вырабатываться на 2–3 нед. позже антител IgM. Их максимальная концентрация достигается к 2–3-му месяцу после заражения и может держаться на таком уровне до года и более. Однако при длительных сроках заболевания у больных нередко отмечают

снижение уровня специфических антител ниже порога чувствительности диагностических методов вследствие связывания антител с антигенами гельминтов и образования ЦИК. Ложноположительные результаты анализа возможны при исследовании сыворотки крови здоровых лиц в 1,0 % случаев, больных непаразитарными заболеваниями (аллергозы, патология ЖКТ, гепатобилиарной системы, системные заболевания) — в 1,5 %, токсоплазмозом — в 5,6 %, токсокарозом — в 7,3 %, эхинококкозом — в 15,4 %, трихинеллезом — в 20,0 %, фасциолезом — в 29,4 % случаев.

В очагах описторхоза у коренных жителей наблюдаются низкие показатели серологических реакций вследствие врожденной толерантности. У пришлого населения (рабочие-вахтовики, переселенцы и др.) вследствие отсутствия врожденной невосприимчивости к заражению описторхозом, как правило, регистрируются высокие показатели серологических реакций.

При серодиагностике возможно получение ложноотрицательных результатов на фоне иммунодефицитных состояний, обусловленных сопутствующими хроническими заболеваниями или индуцированными приемом медикаментов (антибиотики, глюкокортикостероиды, химиопрепараты).

Показания для назначения серологических исследований определены в Методических указаниях «Серологические методы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний», утвержденных 14 ноября 2002 г.:

- высокая эозинофилия крови или лейкомоидная реакция по эозинофильному типу у лиц, употреблявших в пищу речную рыбу;
- обследование лиц, работавших или проживавших в эндемичных по описторхозу районах, а в настоящее время страдающих заболеваниями желчевыводящих путей.

## 2.6. ДИАГНОСТИКА ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

### 2.6.1. Аспергиллез

Возбудителем аспергиллеза являются условно-патогенные плесневые грибы рода *Aspergillus*. Заболевание характеризуется преоблада-

нием поражения органов бронхолегочной системы. Аллергический бронхопульмональный аспергиллез бывает у 1–2 % пациентов с хронической астмой. Диагноз аллергического бронхопульмонального аспергиллеза ставят, если при обследовании выявляют сочетание следующих признаков (присутствуют более чем у 90 % больных):

- 1) приступы бронхиальной астмы;
- 2) число эозинофилов в периферической крови более  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  (часто  $> 3,0 \times 10^9/\text{л}$ );
- 3) быстрорисчезающие или длительно сохраняющиеся ограниченные затемнения на рентгенограммах грудной клетки;
- 4) бронхоэктазы в области крупных бронхов в отсутствие изменений в более мелких при компьютерной томографии или бронхографии;
- 5) положительные кожные пробы с антигенами *Aspergillus*;
- 6) повышение уровня общего IgE в сыворотке крови (обычно более 1000 МЕ/мл);
- 7) повышение уровня аспергиллеспецифического IgE и IgG;
- 8) выявление антител к возбудителю аспергиллеза в сыворотке крови.

При микроскопии мазков и в посевах мокроты возбудители заболевания обнаруживают более чем у 60 % больных. Поскольку *Aspergillus* широко распространены и могут случайно попасть в культуру, их выявление при однократном посеве не может служить достоверным признаком аспергиллеза.

#### 2.6.1.1. Антитела к возбудителю аспергиллеза в сыворотке крови

**Антитела к возбудителю аспергиллеза в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

При серологическом исследовании антитела класса IgG к антигенам *Aspergillus* выявляются в сыворотке крови большинства инфицированных и практически у всех больных, в легких которых при рентгенологическом исследовании обнаружен грибковый «шар» (около 90 % случаев). Тест имеет 100 % специфичность. Важно исследовать уровень антител в динамике. Для заболевания характерно нарастание титра антител.

Более чувствительным серологическим методом диагностики аспергиллеза является обнаружение антигена (галактоманн) аспер-



гилл в крови. Используются латекс-тест и метод ИФА (более чувствительный). Чувствительность ИФА на галактоманн составляет 50–60 %, при повторном исследовании достигает 90 %, специфичность — 90–100 % [Клясова Г. А., 2000].

### 2.6.2. Кандидоз

Чаще всего кандидоз вызывается *Candida albicans* — овальные, размножающиеся почкованием и спорообразованием дрожжеподобные грибы. В норме кандиды — представители резидентной микрофлоры слизистых оболочек полости рта, ЖКТ (в норме при бактериологическом исследовании кала содержание *Candida albicans* не превышает  $10^4$  КОЕ/мл) и женских мочеполовых органов. Кандидоз чаще всего регистрируют у больных с ослабленным иммунитетом. У хирургических больных и пациентов в критическом состоянии на долю представителей рода *Candida* приходится 85,6 % всех грибковых инфекций [Гельфанд Б. Р. и др., 2001]. Основная причина кандидозной инфекции — иммуносупрессия, связанная с химиотерапией злокачественных опухолей или трансплантацией органов. Вторая по частоте причина системного кандидоза — обширные ожоги и хирургические вмешательства, особенно на органах брюшной полости.

Клиническая характеристика кандидоза определяется глубиной поражения слизистых оболочек и органов, локализацией и распространенностью инфекционного процесса. По глубине поражения выделяют:

- 1) поверхностный кандидоз — с поражением слизистой оболочки полости рта, глотки, пищевода, толстой кишки, влагалища;
- 2) поверхностный инвазивный кандидоз — с распространением инфекции за пределы базальной мембраны, но без поражения паренхимы органов;
- 3) глубокий кандидоз — поражение паренхимы внутренних органов и нервной системы.

Патогенез инвазивного кандидоза можно представить в виде следующей последовательности: адгезия грибков и их колонизация на поверхности слизистых оболочек, кожи → инвазия в поверхностные слои покровных тканей с поражением стенки сосудов → гематогенное и лимфогенное распространение *Candida* (генерализация

инфекционного процесса). При этом следует иметь в виду, что более 90 % всех грибов в организме сосредоточено в ЖКТ, поэтому источником высоковирулентных штаммов грибов, вызывающих поражение слизистых оболочек полости рта и половых органов, является кишечник, и без адекватного подавления грибов в нем положительного эффекта лечения добиться невозможно.

Нередко у больных кишечный кандидоз манифестирует диареей. Примерно  $1/3$  всех случаев диареи вследствие приема антибиотиков обусловлено кишечным кандидозом [Златкина А. Р. и др., 2001]. У лиц с системным кандидозом часто обнаруживаются язвы и эрозии ЖКТ.

При системном, генерализованном кандидозе поражение может захватывать один или несколько органов и систем (причем у всех больных уже имеется кандидоз кишечника). Термин «гематогенный кандидоз» характеризует все случаи инфекции с выделением грибка из крови (кандидемия).

У больных, находящихся в отделениях интенсивной терапии, генерализованная форма кандидоза может сопровождаться развитием кандидозной пневмонии, кандидозного менингита и энцефалита, кандидозного миокардита (наиболее частое поражение — выявляют в 62 % случаев, сопровождается ЭКГ-признаками ишемии миокарда и суправентрикулярной тахикардией) и эндокардита, интраабдоминального кандидоза.

Наиболее важным клиническим признаком диссеминированного кандидоза является грибковый эндофтальмит (экссудативные изменения желто-белого цвета сосудистой оболочки глаза).

Для диагностики инвазивного кандидоза применяют следующие методы:

- микроскопия биосубстрата: соскоб слизистой оболочки, кожи, раневое отделяемое, мокрота, биоптат (обнаружение активно вегетирующих клеток и псевдомицелия);
- выделение грибов из стерильных жидкостей организма больного (кровь, СМЖ) или биоптатов. Однако при диссеминированном кандидозе в посевах крови кандиды удается обнаружить только у 35–50 % пациентов, в связи с чем посевам необходимо проводить многократно;
- хроматографическое определение метаболитов грибов — D-арабинитола в различных биологических жидкостях и тка-

нях инфицированных больных. Большинство патогенных *Candida spp.* (кроме *Candida crusei* и *Candida glabrata*) продуцируют значительное количество D-изомера арабинитола, поэтому в сыворотке крови больных при инвазивном кандидозе определяется его повышенное содержание, а также увеличение отношения D-арабинитол/креатинин. Следует иметь в виду, что при отсутствии кандидемии содержание D-арабинитола в сыворотке крови не повышено;

- серологические реакции (обнаружение антигена *Candida albicans* в биологических жидкостях или динамика уровня специфических антител);
- ПЦР — позволяет обнаружить специфическую ДНК *Candida albicans* в биологических жидкостях (чувствительность метода достигает 100 %, специфичность — 98 %) [Einsele H. et al., 1997]. Критериями диагноза кандидозной инфекции у хирургических больных является наличие следующих проявлений [Гельфанд Б. Р. и др., 2001]:
  - колонизация *Candida* — выделение *Candida spp.*, не превышающих  $10^4$  КОЕ/мл, из любого биологического материала (кроме гемокультуры) при отсутствии любых клинических симптомов или признаков инфекционного процесса;
  - кандидемия — одна или более положительная гемокультура с выделением *Candida spp.*;
  - кандидозная уроинфекция — выделение более  $10^5$  колоний *Candida spp.* в 1 мл мочи или данные микроскопического исследования биоптата тканей мочевыводящих путей;
  - интраабдоминальный кандидоз включает интраабдоминальные абсцессы или перитонит, вызванный *Candida spp.*;
  - интраабдоминальный кандидозный абсцесс диагностируется в случае выделения из гнойно-воспалительного очага брюшной полости *Candida spp.*;
  - кандидозный перитонит подтверждается выделением грибов *Candida* из перитонеального экссудата при лапаротомии или из дренажей брюшной полости.

#### 2.6.2.1. Антитела к *Candida albicans* в сыворотке крови

Антитела к *Candida albicans* в сыворотке крови в норме отсутствуют.

Диагностика поверхностного кандидоза основана на обнаружении элементов гриба в окрашенной мазке. При висцеральных формах кандидамикоза большое диагностическое значение имеют серологические исследования. Используют РСК и ИФА. Антитела обнаруживаются методом ИФА более чем у 90 % больных уже в первые 2 недели заболевания и у переболевших сохраняются до 5 лет. Для подтверждения диагноза важно следить за динамикой уровня антител, 4-кратный подъем титров антител между острой и реконвалесцентной стадией позволяет предполагать этиологию заболевания, 4-кратное снижение их уровня в процессе лечения является показателем успешной терапии заболевания. Серологическая диагностика при поверхностном кандидамикозе неэффективна, только тяжелые формы поражения кожи и слизистых оболочек сопровождаются повышением уровня антител.

Определение антител к *Candida albicans* необходимо для диагностики кандидоза различной локализации:

- гнойные воспалительные процессы;
- воспалительные заболевания легких;
- воспалительные заболевания глотки;
- воспалительные заболевания половых органов.

#### 2.6.2.2. Антиген *Candida albicans*

Антиген *Candida albicans* в сыворотке крови в норме отсутствует.

Тест применяется для непосредственного выявления кандидозного антигена в крови больных с инвазивным кандидозом. Этот тест более специфичен, чем выявление антител. Величина выше 2 нг сывороточного кандидозного антигена (маннан) при ИФА предполагает инвазивный кандидоз. Чувствительность метода у онкологических больных составляет 65–70 % при специфичности 100 % [Тиц Н., 1997]. Для выявления антигена кандидоза в сыворотке крови исследование рекомендуется проводить не реже 2 раз в неделю.

#### 2.6.3. Кокцидиоидоз

Кокцидиоидоз — системный микоз, возбудителем которого является почвенный гриб *Coccidioides immitis*. Инфекция эндемична и встречается в некоторых районах США и Латинской Америки. Инфицирование происходит при вдыхании артроспор, находящихся

ей в воздухе. Клинически заболевание может проявляться гриппоподобным состоянием, у половины больных в легких формируются каверны, которые в дальнейшем рубцуются, или процесс переходит в хронический. Диссеминированная форма, при которой наблюдается высокая летальность, развивается очень редко (менее чем у 1 % инфицированных). Заболевание от человека человеку не передается.

Получение чистой культуры *Coccidioides immitis* (материалом для исследования служит мокрота, гной, кровь, СМЖ) требует очень длительного времени (от 3 нед. до 2 мес.), поэтому для диагностики используются серологические методы.

### 2.6.3.1. Антитела к возбудителю кокцидиоидоза в сыворотке крови

Антитела к возбудителю кокцидиоидоза в сыворотке крови в норме отсутствуют.

Реакция преципитации позволяет обнаружить в сыворотке антитела класса IgM. Эти антитела появляются в острый период инфекции (выявляют у 75 % больных), снижаются спустя 3 нед. и обычно не обнаруживаются на 5-м месяце от начала заболевания (рис. 2.23).

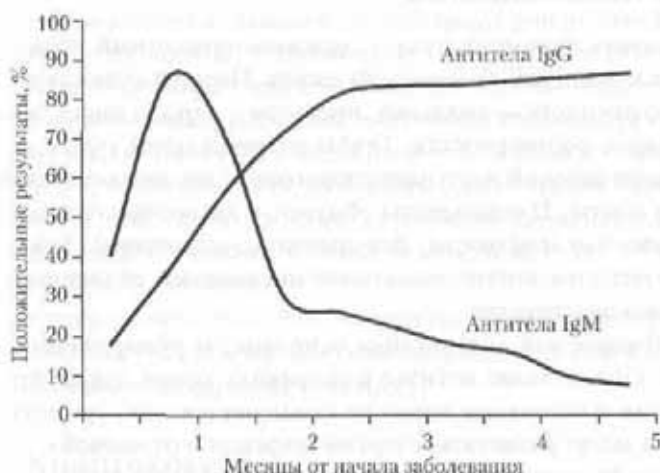


Рис. 2.23. Частота обнаружения антител у больных кокцидиоидозом

Если реакция преципитации отрицательна в 1-ю неделю заболевания, то необходимо повторить исследование еще 3 раза с интервалом 1–2 нед. Реакция преципитации может быть ложноположительной у больных гистоплазмозом и кожным бластомикозом.

РСК используют для обнаружения антител класса IgG. Эти антитела появляются несколько позже антител класса IgM (в 1-ю неделю выявляются только у 10 % заболевших), их титр растет по мере утяжеления клинической картины заболевания. В 1-й месяц болезни антитела IgG выявляют менее чем у  $\frac{1}{3}$  пациентов, большинство положительных реакций приходится на 4–5-ю неделю. Титр антител снижается через 4–8 мес., но может сохраняться в низких титрах несколько лет. Однократные титры 1:16 и 1:32 предполагают наличие заболевания, а выше 1:32 — свидетельствуют об активной болезни и заставляют предполагать наличие диссеминированной формы. Снижение титра антител IgG в динамике свидетельствует об эффективности проводимой терапии, а увеличение — о прогрессировании заболевания. Обнаружение антител IgG в СМЖ предполагает менингит. РСК может давать перекрестную реакцию с другими микозами (бластомикоз).

#### 2.6.4. Пневмоцистоз

Возбудитель пневмоцистоза — условно-патогенный почкующийся дрожжевой гриб *Pneumocystis carinii*. Паразит существует в двух формах: прециста — овальная, имеющая 1 ядро, и циста, имеющая 2–8 ядер и форму розетки. Грибы размножаются путем деления, после ряда делений наступает спорогония, завершающаяся образованием цисты. Пневмоцисты обитают в альвеолах легких различных животных и человека, факультативно-патогенны. Заболевание характеризуется интерстициальной пневмонией со склонностью к хроническому течению.

Лабораторная диагностика основана на обнаружении возбудителя. Определение антител в сыворотке крови для диагностики инфекции в настоящее время не применяется; так, существующие тесты не могут различать «старую» инфекцию от «новой».

Для обнаружения возбудителя наиболее часто используют метод прямой микроскопии мазков из биоматериала респираторного тракта: мокроты, бронхоальвеолярного лаважа и, по специальным

показаниям, биоптатов легочной ткани. Исследование нативной мокроты малоинформативно. Диагностическая ценность анализа индуцированной мокроты, полученной с помощью ингаляции 3% раствора натрия хлорида или (у детей) путем надавливания на корень языка и собранной в чашку или на тампон, составляет (в зависимости от окраски) 80–90%. Информативность исследования бронхоальвеолярного лаважа достигает 90–97% [Лыкова Е. А., 2001].

При окрашивании мазка по Романовскому—Гимзе можно выявить все формы пневмоцист. Специальные окраски (по Гомори, толуидиновым синим) облегчают интерпретацию полученных результатов, но дороги и трудоемки. Более информативны и чувствительны метод прямой флюоресценции и ПЦР.

#### 2.6.4.1. Определение антигенов *Pneumocystis carinii* методом прямой флюоресценции в мокроте

**Антигены *Pneumocystis carinii* в мокроте в норме отсутствуют.**

Пневмоцисты редко присутствуют в мокроте и слизи из трахеи, поэтому для получения адекватных материалов для исследования обычно требуются более инвазивные методы. Применять их нужно в начале лечения заболевания. Фибробронхоскопия с бронхоальвеолярным промыванием (лаважем) и/или трансбронхиальной биопсией — наиболее широко используемые методы для получения материала на исследования у взрослых больных. Исследование материала, полученного этими методами, дает положительные результаты выявления пневмоцист у 90% пациентов со СПИДом и у около 40% других категорий больных с ослабленным иммунитетом. При выявлении в мазке даже одного флюоресцирующего пятна исследование считается положительным. Чувствительность метода — 71–97%, специфичность — 30–40%.

Определение антигенов *Pneumocystis carinii* в мокроте применяется для диагностики пневмоцистной пневмонии, в том числе при вторичных иммунодефицитах (СПИДе).

#### 2.6.5. Криптококкоз

Криптококкоз (европейский бластомикоз) — глубокое неконтагиозное заболевание кожи и внутренних органов, вызываемое

дрожжевым грибом *Cryptococcus neoformans*. Возбудитель обнаруживается в почве и присутствует в больших количествах в помете голубей. Заражение происходит при вдыхании грибка с пылью. Наиболее часто заболевание проявляется поражением ЦНС. Лабораторная диагностика основана на обнаружении гриба в исследуемом материале (СМЖ, гной из свищей, пунктаты тканей), антител к *Cryptococcus neoformans* или антигена возбудителя в сыворотке крови.

#### 2.6.5.1. Антитела к возбудителю криптококкоза в сыворотке крови

**Антитела к возбудителю криптококкоза в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Для обнаружения специфических антител к возбудителю криптококкоза используют РПГА, реакцию преципитации, РСК. РПГА — самая полезная в ранней стадии болезни, когда антиген возбудителя еще обнаружить очень трудно. Антитела появляются в острый период инфекции, их титр увеличивается на 2–3-й неделе и может сохраняться повышенным в течение нескольких месяцев. Ложноположительные результаты РПГА могут быть получены у больных ревматоидным артритом, нейросифилисом, бактериальными и другими грибковыми инфекциями.

#### 2.6.5.2. Антиген *Cryptococcus neoformans*

**Антигены *Cryptococcus neoformans* в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Для выявления антигена *Cryptococcus neoformans* применяют латекс-агглютинацию и ИФА.

Латекс-агглютинация на слайде с сывороткой и СМЖ позволяет обнаружить специфический криптококковый антиген. Этот тест наиболее ценен при менингите (чувствительность — 95%), но может быть положительным в 30% случаев без менингита. Титр антигена коррелирует с клинической картиной: возрастание титра свидетельствует о прогрессировании заболевания, снижение — об эффективности проводимого лечения. В ряде случаев, когда антиген в крови или СМЖ не обнаруживается, удается выявить антитела в РПГА. Метод ИФА имеет более высокие чувствительность и специфичность по сравнению с латекс-агглютинацией.



### 2.6.6. Гистоплазмоз

Гистоплазмоз — заболевание, вызываемое диморфным грибом *Histoplasma capsulata*. Гистоплазма обитает в почве, загрязненной пометом птиц и летучих мышей. Заражение происходит аэрогенным путем при вдыхании пыли со спорами гриба. Клиническая картина заболевания характеризуется вовлечением в патологический процесс легких, лимфатических узлов, при генерализации процесса могут поражаться различные органы.

Лабораторная диагностика основана на обнаружении гриба в исследуемом материале (СМЖ, гной из свищей, пунктаты тканей), антител к *Histoplasma capsulata* или антигена возбудителя в сыворотке крови.

#### 2.6.6.1. Антитела к возбудителю гистоплазмоза в сыворотке крови

**Антитела к возбудителю гистоплазмоза в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Для определения антител к возбудителю гистоплазмоза в сыворотке крови используют РСК. Единичный титр 1:32 и выше или 4-кратное повышение титра при исследовании парных сывороток с высокой вероятностью свидетельствует в пользу активного гистоплазмоза (выявляют более чем у 95 % больных с первичной инфекцией и выраженной клинической симптоматикой). Нарастание титра наблюдается в течение 3–6 нед. после начала заболевания. Повышенные титры более характерны для больных с легочной патологией, чем для диссеминированной формы болезни. Положительные титры сохраняются месяцами и годами, если заболевание остается активным. По титрам антител невозможно прогнозировать течение болезни. При титре антител в сыворотке менее 1:8 результат РСК расценивается как отрицательный. Титр 1:8 и выше в СМЖ — свидетельство менингококкового гистоплазмоза.

#### 2.6.6.2. Антиген *Histoplasma capsulata*

**Антигены *Histoplasma capsulata* в сыворотке крови в норме отсутствуют.**

Антигены *Histoplasma capsulata* можно обнаружить в моче, сыворотке крови, СМЖ методом ИФА или РИА.

В моче антиген обнаруживается у 90 % пациентов с диссеминированной формой заболевания, у около 20 % — с острой самоограниченной формой и менее чем у 10 % — при хронической патологии легких. Исчезновение или снижение количества антигенов в моче свидетельствует об эффективности лечения амфотерицином В.

Методы ИФА и РИА менее чувствительны в отношении выявления антигена в сыворотке крови (выявляют только у 50 % больных диссеминированной формой). Нарастание количества антигенов *Histoplasma capsulata* в сыворотке крови после их снижения или исчезновения свидетельствует о рецидиве заболевания.

В СМЖ антигены обнаруживают менее чем в 50 % случаев менингита. Тесты могут давать перекрестную реакцию в сыворотке крови и СМЖ у больных кокцидиоидальным менингитом.

## 2.7. ДИАГНОСТИКА ПЕРИНАТАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Заражение плода во время развития в организме матери может привести к различным инфекционным заболеваниям, которые объединены одним общим названием — внутриутробная инфекция. Ребенок может заразиться различными возбудителями инфекционных заболеваний во время родов (при прохождении по инфицированным родовым путям) или после рождения (через материнское молоко и другие биологические жидкости). Инфекционные заболевания, развившиеся вследствие этих причин, получили название неонатальных инфекций (интра- и постнатальные). У многих новорожденных, заразившихся во время или после родов, инфекция может протекать бессимптомно. Однако у некоторых из них, особенно у недоношенных, развиваются выраженные клинические проявления заболевания с тяжелым течением. Перинатальные инфекции — это инфекционные заболевания, возникшие вследствие инфицирования плода во время внутриутробного развития, во время рождения или после рождения.

В последние годы отмечается значительное увеличение частоты врожденных инфекций, причем преимущественно вирусной этиологии. В настоящее время очевидна роль этих инфекций в формировании младенческой заболеваемости, инвалидности и смертности. Согласно последним данным, более 10 % новорожденных инфицируются внутриутробно различными вирусами и микроорганизмами [Ожегов А. М. и др., 2000].

Вирусные инфекции вызывают до 80 % врожденных пороков развития у детей, среди которых ведущее место занимают поражения ЦНС, а также врожденные пороки сердца и почек [Таболин В. А. и др., 1997]. Многочисленные научные данные свидетельствуют об этиологической связи врожденных пороков развития у детей с вирусными инфекциями, перенесенными матерями во время беременности, или с трансплацентарной передачей вирусов от матерей с персистентной формой инфекции.

К наиболее распространенным перинатальным инфекциям относятся герпетическая, цитомегаловирусная, парвовирусная и токсоплазменная инфекции, краснуха, хламидиоз.

Наибольшую опасность для потомства представляет наличие у беременных стертых и латентных форм инфекционных заболеваний, сопровождающихся персистенцией возбудителей. В связи с этим своевременная диагностика и лечение этих инфекций у женщин являются весьма актуальной проблемой для современной клинической практики.

Вирусологическое обследование новорожденных детей и беременных женщин позволяет диагностировать вирусную инфекцию у подавляющего большинства обследованных (до 98 %). Нередко у беременных и новорожденных детей выявляют смешанную инфекцию, представленную не менее чем 3 вирусами, способными вызывать развитие врожденных пороков.

Ранняя и своевременная диагностика вирусной инфекции у беременных и врожденной инфекции у детей позволяет выработать оптимальную терапевтическую тактику ведения, рационально применять препараты с противовирусной направленностью с целью снижения вероятности возникновения у детей пороков развития.

При подозрении на внутриутробную инфекцию чаще всего проводится исследование беременных женщин на наличие маркеров герпетической, цитомегаловирусной, парвовирусной, хламидийной и токсоплазменной инфекции, а также краснухи. Отрицательные результаты исследований матери во время беременности на данные инфекции в большинстве случаев позволяет исключить возможность инфицирования плода. В случае, если подозревается интра- и постнатальная инфекция, необходимо проводить параллельное исследование крови матери и ребенка. При этом возможны различные ситуации, вызывающие у врачей затруднения при интерпретации

результатов. Наиболее часто встречающиеся из них приведены в табл. 2.23.

Таблица 2.23

### Интерпретация результатов лабораторного обследования матери и ребенка

Результат исследования	Оценка и рекомендации
Наличие антител у матери и ребенка к одному и тому же возбудителю (возбудителям)	Наличие антител IgM указывает на врожденную инфекцию. Если повышен уровень антител IgG, необходимо провести исследование уровня антител в динамике через 1–2 мес. При необходимости использовать методы прямого обнаружения возбудителя (ПЦР, обнаружение антигенов методом РИФ или ИФА)
Обнаружение антител у матери и отсутствие их у новорожденного при наличии у него клинической картины заболевания, а также при обследовании ребенка, родившегося от инфицированной матери	Использовать методы прямого обнаружения возбудителя (ПЦР, обнаружение антигенов методом РИФ или ИФА) у ребенка или исследовать уровень антител в динамике в течение 1-го года жизни, так как инфицирование исключить нельзя (может иметь место иммунологическая толерантность, и антитела не синтезируются)
Обнаружение высоких титров антител IgG у ребенка вскоре после рождения	Повышенный уровень антител IgG свидетельствует скорее о пассивном иммунитете, полученном от матери, чем о врожденной инфекции. Для уточнения ситуации необходимо исследовать уровень антител IgM или следить за динамикой антител IgG (если ребенок не инфицирован, их титр к возрасту 4–6 мес. резко снижается)
Обнаружение у ребенка антител и/или возбудителей (антигенов) при отсутствии антител у матери	Имеет место внутриутробное инфицирование или инфицирование во время родов; возможно заражение ребенка через молоко матери или при переливании крови и ее компонентов; в отдельных случаях не исключено инфицирование медперсоналом. Ситуация может иметь место у женщин, лечившихся по поводу инфекции, в случае наступления беременности на фоне лечения или в первые месяцы после лечения
Уровень специфических антител IgG в сыворотке крови ребенка превышает уровень аналогичных антител у матери (при отсутствии антител IgM и IgA)	Результаты исследования не могут свидетельствовать об инфицировании ребенка. Необходимо исследовать уровень антител в динамике и использовать методы прямого обнаружения возбудителя (ПЦР, обнаружение антигенов методом РИФ или ИФА)

Окончание табл. 2.23

Результат исследования	Оценка и рекомендации
Наличие антител IgM и/или IgA (для хламидиоза) у ребенка	Свидетельствует об инфицировании ребенка (антитела IgM через плаценту не проникают)
Появление антител IgM и/или IgA (для хламидиоза) наряду с антителами IgG или только IgG у ранее серонегативного ребенка (сероконверсия)	Свидетельствует о первичной инфекции

При использовании в оценке данных, приведенных в табл. 2.23, необходимо учитывать, что выявление у новорожденного только антител IgG является малоинформативным ввиду трансплацентарного проникновения материнских антител в его организм при внутриутробном развитии. Поэтому для исключения инфицированности необходимо определять антитела IgG в динамике у ребенка в 1-, 3-, 6-, 11–12-месячном возрасте, а при появлении клинических признаков заболевания использовать методы прямого обнаружения возбудителя (ПЦР, обнаружение антигенов методом РИФ или ИФА).

В ряде случаев при обследовании новорожденных на наличие внутриутробных инфекций может быть получен ложноотрицательный результат серологического исследования вследствие влияния высокой концентрации материнских антител класса IgG, которые «маскируют» наличие антител IgM у ребенка, или иммунологической толерантности (неспособность организма к иммунному ответу и синтезу антител). В связи с этим при наличии клинических проявлений заболевания необходимо использовать методы прямого обнаружения возбудителя.

## 2.8. ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ В ДИАГНОСТИКЕ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

ПЦР, являющаяся одним из методов ДНК-диагностики, позволяет увеличить число копий детектируемого участка генома (ДНК) бактерий или вирусов в миллионы раз с использованием фермента

ДНК-полимеразы. Тестируемый специфический для данного генома отрезок нуклеиновой кислоты многократно умножается (амплифицируется), что позволяет его идентифицировать. Сначала молекула ДНК бактерий или вирусов нагреванием разделяется на две цепи, затем в присутствии синтезированных ДНК-праймеров (последовательность нуклеотидов специфична для определяемого генома) происходит связывание их с комплементарными участками ДНК, синтезируется вторая цепь нуклеиновой кислоты вслед за каждым праймером в присутствии термостабильной ДНК-полимеразы. Получается две молекулы ДНК. Процесс многократно повторяется. Для диагностики достаточно 1 молекулы ДНК, т. е. 1 бактерии или вирусной частицы. Введение в реакцию дополнительного этапа — синтеза ДНК на молекуле РНК при помощи фермента обратной транскриптазы — позволило тестировать РНК-вирусы, например вирус гепатита С. ПЦР — это трехступенчатый процесс, повторяющийся циклично: денатурация, отжиг праймеров, синтез ДНК (полимеризация). Синтезированное количество ДНК идентифицируют методом ИФА или электрофореза.

В ПЦР может быть использован различный биологический материал — сыворотка или плазма крови, соскоб из уретры, биоптат, плевральная или спинномозговая жидкость и т. д. ПЦР применяют, главным образом, для диагностики инфекционных болезней, таких как вирусные гепатиты В, С, D, ЦМВ-инфекция, инфекционные заболевания, передающиеся половым путем (гонорея, хламидийная, микоплазменная, уреоплазменная инфекции), туберкулез, ВИЧ-инфекция и т. д. ПЦР используют также для диагностики злокачественных заболеваний, например ретинобластомы, В-клеточной лимфомы. Этот метод применяется и для диагностики наследственных заболеваний, дородового определения пола плода, ДНК-дактилоскопии в криминалистике, проведения санитарно-гигиенических исследований объектов питания и водоснабжения.

Преимущество ПЦР в диагностике инфекционных заболеваний перед другими методами исследований заключается в следующем:

- возбудитель инфекции может быть обнаружен в любой биологической среде организма, в том числе и материале, получаемом при биопсии;
- возможна диагностика инфекционных болезней на самых ранних стадиях заболевания;

- возможность количественной оценки результатов исследований (сколько вирусов или бактерий содержится в исследуемом материале);
- высокая чувствительность метода; например, чувствительность ПЦР для выявления ДНК вируса гепатита В в крови составляет 0,001 пг/мл (приблизительно  $4,0 \times 10^3$  копий/мл), в то время как метода гибридизации ДНК с использованием разветвленных зондов — 2,1 пг/мл (приблизительно  $7,0 \times 10^2$  копий/мл).

### 2.8.1. Обнаружение вируса гепатита С

**Вирус гепатита С в материале в норме отсутствует.**

В отличие от серологических методов диагностики ВГС, где обнаруживают антитела к этому вирусу, ПЦР позволяет выявить наличие непосредственно РНК ВГС и количественно выразить его концентрацию в исследуемом материале. Тест имеет видовую специфичность и высокую чувствительность — 10 молекул РНК ВГС в исследуемом материале достаточно для его выявления. Обнаружение антител к ВГС подтверждает лишь факт инфицирования пациента, но не позволяет судить об активности инфекционного процесса (о репликации вируса), о прогнозе заболевания. Кроме того, антитела к ВГС обнаруживают как в крови больных острым и хроническим гепатитом, так и у тех пациентов, кто болел и выздоровел, а нередко антитела в крови появляются только спустя несколько месяцев после появления клинической картины заболевания, что затрудняет диагностику. Обнаружение ВГС в крови с использованием ПЦР — более информативный метод диагностики. Выявление ПЦР РНК вируса гепатита С свидетельствует о виремии, позволяет судить о репликации вируса в организме и является одним из критериев эффективности противовирусной терапии. Обнаружение РНК ВГС с помощью ПЦР на ранних этапах развития вирусной инфекции на фоне полного отсутствия каких-либо серологических маркеров может служить самым ранним свидетельством инфицирования. Однако изолированное выявление РНК ВГС на фоне полного отсутствия каких-либо других серологических маркеров не может полностью исключить ложноположительный результат ПЦР. В таких случаях требуются всесторонняя оценка клинических, биохимических и

морфологических исследований и повторное неоднократное подтверждение наличия инфекции ПЦР.

Важное значение имеет применение метода ПЦР у больных с хроническим ВГС, так как у большинства из них отсутствует корреляция между наличием вирусной репликации и активностью печеночных ферментов. В таких случаях только ПЦР позволяет судить о наличии вирусной репликации, особенно если конечный результат выражается количественно. В большинстве случаев заболевания исчезновение из сыворотки крови РНК ВГС наблюдается позже нормализации печеночных ферментов, поэтому их нормализация не может служить основанием для прекращения противовирусного лечения. Алгоритм диагностики ВГС с использованием метода ПЦР приведен на схеме 2.13.

Практически важно для выявления РНК вируса исследовать методом ПЦР не только сыворотку крови, но и лимфоциты, гепатобиоптаты. Вирусы удается обнаружить в 2–3 раза чаще в ткани печени, чем в сыворотке крови [Серов Н. А. и др., 1998]. При оценке результатов исследования сыворотки крови на РНК ВГС следует помнить, что вирусемия может носить флюктуирующий характер (как и изменение активности ферментов). Поэтому после положительных результатов исследования ПЦР можно получить отрицательный результат и наоборот. В таких случаях для разрешения возникающих сомнений лучше исследовать гепатобиоптаты.

Обнаружение РНК ВГС в материале с помощью ПЦР используется в целях:

- разрешения сомнительных результатов серологических исследований;
- дифференциации гепатита С от других форм гепатита;
- выявления острой стадии заболевания по сравнению с перенесенной инфекцией или контактом; определения стадии инфицированности новорожденных от серопозитивных по ВГС матерей;
- контроля эффективности противовирусного лечения.

Все вышеизложенные особенности оценки результатов и подходов к диагностике ВГС с использованием ПЦР относятся и к другим инфекциям.

Внедрение метода ПЦР позволило выделить группу пациентов с хроническим ВГС со стойко нормальной активностью АЛТ, которых



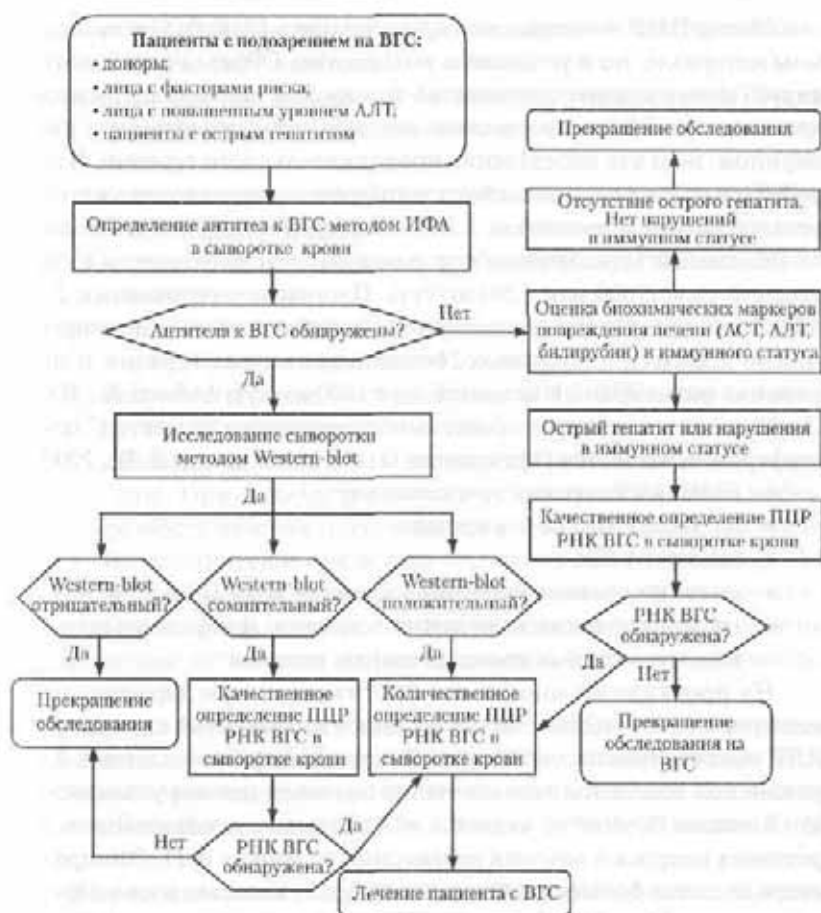


Схема 2.13. Алгоритм диагностики ВГС

раньше объединяли термином «здоровые носители HCV», так как было доказано, что у 15–20 % из них имеется выраженный фиброз печени, а заболевание прогрессирует даже при сохранении нормальных уровней АЛТ. Кроме того, у 15–20 % больных в отдаленном периоде регистрируются повышение АЛТ и обострение гепатита, которые ассоциируются с прогрессированием болезни печени (чаще отмечается при инфицировании генотипом 2 ВГС) [Alberti A., 2005]. Доля таких пациентов среди всех больных хроническим ВГС составляет 20–40 %.

Метод ПЦР позволяет не только выявить РНК ВГС в исследуемом материале, но и установить его генотип. Определение генотипа вируса имеет важное значение не только для подбора пациентов с хроническим ВГС к проведению лечения  $\alpha$ -интерфероном и рибавирином, но и для определения продолжительности терапии. Чтобы добиться максимальной частоты устойчивого вирусологического ответа у больных с генотипом 1 ВГС, необходимо проводить полный 48-недельный курс лечения с использованием рибавирина в стандартной дозе (1000 или 1200 мг/сут). Пациенты с генотипами 2 и 3 ВГС более чувствительны к лечению, поэтому элиминации вирусов можно добиться с помощью 24-недельного курса терапии и применения рибавирина в меньшей дозе (800 мг/сут) [Alberti A., 2005]. Показаниями к лечению хронического вирусного гепатита С  $\alpha$ -интерфероном являются [Минушкин О. Н., Масловский Л. В., 2000]:

- повышение уровня трансаминаз;
- наличие РНК ВГС в крови;
- генотип 1 ВГС;
- высокий уровень виремии в крови ( $> 8,0 \times 10^5$  копий/мл);
- гистологические изменения в печени: фиброз, умеренные или выраженные воспалительные явления.

На протяжении многих лет противовирусную терапию у пациентов с хроническим ВГС со стойко нормальной активностью АЛТ считали нецелесообразной. В последних рекомендациях Американской ассоциации по изучению болезней печени указывается, что биопсия печени не является обязательным исследованием для решения вопроса о лечении независимо от уровня АЛТ. Это прежде всего касается больных с генотипами 2 и 3, которые очень хорошо отвечают на 24-недельный курс терапии. С другой стороны, результаты биопсии печени при нормальной активности АЛТ служат главным показанием к лечению в возрасте старше 50 лет при наличии генотипов вирусов, которые с трудом поддаются терапии.

Для оценки эффективности лечения хронического ВГС  $\alpha$ -интерфероном Европейской группой по изучению печени [Eurohep, 1996] рекомендуются следующие критерии.

#### 1. Биохимические:

- первичная ремиссия — два последовательных нормальных значения АЛТ, взятых в процессе лечения с интервалом не менее 2 нед.;

- прекращение ремиссии (ускользание) — повторное повышение АЛТ еще в ходе лечения;
  - стабильная ремиссия — стойкая нормализация АЛТ в течение первых 6 мес. наблюдения после окончания лечения;
  - длительная ремиссия — стойкая нормализация АЛТ на протяжении не менее 24 мес. после окончания лечения;
  - отсутствие ремиссии — любая другая динамика АЛТ к концу лечения;
  - рецидив — повторное повышение АЛТ в ходе лечения или в ближайшие 6 мес. после окончания терапии.
2. Вирусологические — определение РНК ВГС должно проводиться до лечения и к концу терапии, а затем через 6 и 24 мес. наблюдения. Результаты оценивают аналогично биохимическим. При количественном определении РНК ВГС эффективность лечения оценивают по уровню снижения вирусемии.
  3. Гистологические (не всегда считаются обязательными). Для оценки используют индекс гистологической активности в баллах. Выделяют: ремиссию, неполную ремиссию (уменьшение активности не менее чем на 2 балла), отсутствие ремиссии.

Обычно при лечении хронического ВГС  $\alpha$ -интерфероном трансаминазы нормализуются через 1–3 мес. у 85 % больных; РНК ВГС не обнаруживается в крови к 4-му месяцу лечения у 40 % больных, к 9-му месяцу — у 70 %, к 12-му — у 80 % [Иванова Л. М. и др., 2000].

В настоящее время можно количественно определять содержание РНК ВГС в сыворотке крови методом ПЦР, что имеет важное значение для контроля за лечением  $\alpha$ -интерфероном. Уровень вирусемии оценивают следующим образом: при содержании РНК ВГС от  $10^2$  до  $10^4$  копий/мл — слабая; от  $10^5$  до  $10^7$  копий/мл — средняя и выше  $10^8$  копий/мл — высокая. Показано, что наиболее благоприятный прогноз заболевания и наибольшую вероятность ответа на противовирусную терапию имеют лица с низким уровнем вирусемии (менее  $3,0 \times 10^5$  копий/мл). При эффективном лечении уровень вирусемии снижается.

Общепринятым критерием ответа на противовирусную терапию служит элиминация РНК ВГС — невозможность ее определения

через 24 нед. после завершения лечения. Устойчивый вирусологический ответ (отсутствие РНК ВГС в крови) — это оптимальный критерий эффективности лечения, который ассоциируется с улучшением гистологической картины и качества жизни и снижением частоты прогрессирования фиброза и развития цирроза и смертности у пациентов с далеко зашедшими стадиями болезни. В связи с появлением чувствительных и специфичных методов анализа РНК ВГС биохимические критерии ответа на терапию все реже используются в клинической практике.

### 2.8.2. Обнаружение вируса гепатита В

#### Вирус гепатита В в материале в норме отсутствует.

Примерно 5–10% случаев цирроза и других хронических заболеваний печени обусловлены хроническим носительством ВГВ [Moyer L. A., Mast E. E., 1994]. Маркерами активности таких заболеваний являются HBeAg и ДНК вируса гепатита В в сыворотке крови.

ПЦР позволяет определять в исследуемом материале (кровь, пунктат печени) ДНК ВГВ как качественно, так и количественно. Качественное определение ВГВ в материале позволяет подтвердить наличие вируса в организме больного и тем самым устанавливает патогенез заболевания. Количественный метод определения содержания ДНК ВГВ в исследуемом материале дает важную информацию об интенсивности развития заболевания, об эффективности лечения и о развитии резистентности к противовирусным препаратам. Для диагностики вирусного гепатита методом ПЦР в сыворотке крови в настоящее время применяются тест-системы, чувствительность которых составляет 50–100 копий в пробе, что позволяет детектировать вирус при его концентрации  $5 \times 10^3$ – $10^4$  копий/мл [Барановский П. М. и др., 1999]. ПЦР при ВГВ безусловно необходима для суждения о вирусной репликации. Вирусную ДНК в сыворотке крови обнаруживают у 50% больных при отсутствии HBeAg. Материалом для выявления ДНК ВГВ могут служить сыворотка крови, лимфоциты, гепатобиоптаты. Оценка результатов исследования на ДНК ВГВ во многом аналогична описанной для гепатита С.

Обнаружение ДНК ВГВ в материале с помощью ПЦР необходимо для:

- разрешения сомнительных результатов серологических исследований;
- выявления острой стадии заболевания по сравнению с перенесенной инфекцией или контактом;
- контроля эффективности противовирусного лечения.

Существует зависимость между исходом острого ВГВ и концентрацией ДНК вируса в крови больного. При низком уровне виремии (менее 0,5 пг/мкл) процесс хронизации инфекции близок к нулю, при концентрации ДНК ВГВ от 0,5 до 2 пг/мл хронизация процесса наблюдается у 25–30 % больных, а при высоком уровне виремии (более 2 пг/мл) острый ВГВ чаще всего переходит в хронический [Ильина Е. Н. и др., 2003].

Показаниями для лечения хронического ВГВ  $\alpha$ -интерфероном следует считать наличие маркеров активной репликации вируса (выявление HBeAg, HBsAg и ДНК ВГВ в сыворотке крови в течение предшествующих 6 мес.). Критериями оценки эффективности лечения служат исчезновение HBeAg и ДНК ВГВ в крови, что обычно сопровождается нормализацией уровня трансаминаз и длительной ремиссией заболевания. Исчезновение HBeAg — надежный индикатор длительной ремиссии [Lau D. T. et al., 1998]. Обычно при лечении трансаминазы нормализуются через 1–3 мес. у 85 % больных; ДНК ВГВ исчезает из крови к 5-му месяцу лечения у 60 %, к 9-му месяцу — у 80 % больных [Иванова Л. М. и др., 2000]. Алгоритм обследования и ведения больных хроническим ВГВ представлен на схеме 2.14 [Malik A. H., Lee W. M., 2000]. Механизм действия  $\alpha$ -интерферона состоит в возможности подавлять перемещение прегеномной информационной РНК из ядра в цитоплазму клетки, а ламивудина (нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы) — в предотвращении обусловленного действием полимеразы процесса обратной транскрипции прегеномной информационной РНК и ее трансформации в ДНК ВГВ в цитоплазме гепатоцита. Обычно сероконверсия (исчезновение HBeAg и появление антител к нему) связана с исчезновением ДНК ВГВ из сыворотки крови и наступлением ремиссии. Однако из-за мутаций генома ВГВ в участке preC у части больных и после появления антител к HBeAg активный процесс в печени не прекращается, в таких случаях метод ПЦР позволяет выявить в сыворотке крови ДНК ВГВ.

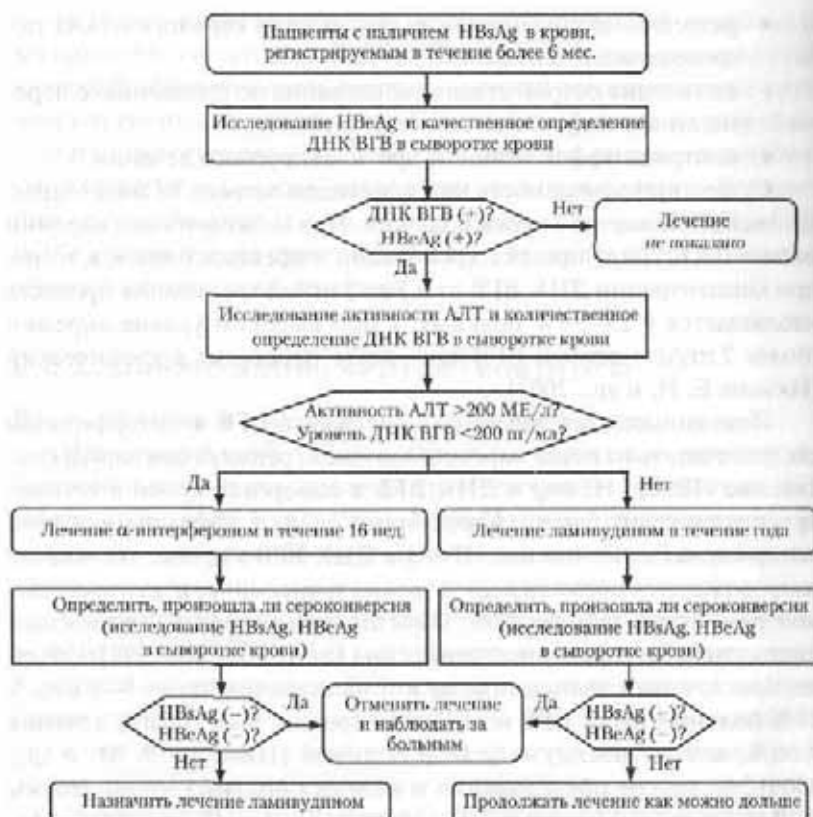


Схема 2.14. Алгоритм обследования и ведения больных хроническим ВГВ

### 2.8.3. Обнаружение вируса иммунодефицита человека

**Вирус иммунодефицита человека в материале в норме отсутствует.**

Метод ПЦР для обнаружения РНК ВИЧ может быть качественным и количественным. Качественное обнаружение РНК ВИЧ с помощью ПЦР используют для:

- неонатального скрининга;
- подтверждения результатов скринингового серологического исследования;

- скрининга пациентов с высоким риском инфицирования;
- разрешения сомнительных результатов по иммуноблоттинговому исследованию;
- контроля эффективности противовирусного лечения;
- определения стадии заболевания СПИД (переход инфицированности в заболевание).

Прямое количественное определение РНК ВИЧ с помощью ПЦР позволяет более точно, чем определение содержания CD4<sup>+</sup>-клеток, предсказать скорость развития СПИДа у лиц, инфицированных ВИЧ, а следовательно, более точно оценить их выживаемость. Высокое содержание вирусных частиц обычно коррелирует с выраженным нарушением иммунного статуса и низким содержанием CD4<sup>+</sup>-клеток. Низкое содержание вирусных частиц обычно коррелирует с более благополучным иммунным статусом и более высоким содержанием CD4<sup>+</sup>-клеток. Содержание вирусной РНК в крови позволяет предсказать переход заболевания в клиническую стадию. При содержании РНК-1 ВИЧ > 74 100 копий/мл почти у всех пациентов развивается клиническая картина СПИДа [Senior D., Holden E., 1996]. Вероятность развития СПИДа в 10,8 раза выше у лиц с содержанием ВИЧ-1 в крови > 10 000 копий/мл, чем у лиц с содержанием ВИЧ-1 в крови < 10 000 копий/мл. При инфекции ВИЧ прогноз непосредственно определяется уровнем вирусемии. Снижение уровня вирусемии при лечении улучшает прогноз заболевания. Прогностическое значение показателя вирусемии в отношении развития СПИДа и смерти пациентов с ВИЧ представлено в табл. 2.24.

Таблица 2.24

**Прогностическое значение показателя вирусемии в отношении развития СПИДа и смерти пациентов с ВИЧ**

Уровень РНК ВИЧ, копий/мл	Показатель развития СПИДа в течение 6 лет, %	Показатель летальности инфицированных ВИЧ в течение 6 лет, %
Более 30 000	80,0	69,5
10 001–30 000	55,2	34,9
3 001–10 000	31,7	18,1
501–3 000	16,6	6,3
Менее 500	5,4	0,9

Группой экспертов США разработаны показания для терапии пациентов с ВИЧ. Лечение показано пациентам с количеством CD4<sup>+</sup>-клеток в крови менее 300 в 1 мкл или уровнем РНК ВИЧ в сыворотке крови выше 20 000 копий/мл (ПЦР). Оценка результатов антиретровирусной терапии лиц, инфицированных ВИЧ, проводится по снижению уровня сывороточной РНК ВИЧ. При эффективном лечении уровень вирусемии должен снижаться в 10 раз в течение первых 8 недель и быть ниже предела чувствительности метода (ПЦР) (< 500 копий/мл) через 4–6 мес. после начала терапии.

#### 2.8.4. Обнаружение цитомегаловируса

**Цитомегаловирус в исследуемом материале в норме отсутствует.**

Обнаружение частиц вируса в крови больного с помощью ПЦР используют для диагностики ЦМВ-инфекции и контроля эффективности противовирусного лечения. В отличие от серологических методов диагностики ЦМВ-инфекции, где выявляются антитела к ЦМВ, ПЦР позволяет выявить наличие непосредственно вируса и количественно выразить его концентрацию в сыворотке крови. Выявление ЦМВ имеет большое значение в диагностике перинатальной патологии. Внутриутробная и перинатальная передача вируса может иметь тяжелые последствия. ЦМВ-инфекция во время беременности часто протекает в субклинической форме и сопровождается относительно невыраженными симптомами. ПЦР в таких случаях позволяет выявить этиологический фактор заболевания. Материалом для исследования могут служить клетки осадка мочи (новорожденных детей), эпителий цервикального канала больных женщин, околоплодные воды, соскобы с конъюнктивы глаз и урогенитального тракта, слюна, пунктаты печени.

#### 2.8.5. Обнаружение вируса папилломы человека

Вирусы папилломы человека являются малыми ДНК-содержащими онкогенными вирусами, которые инфицируют эпителиальные клетки и индуцируют пролиферативные поражения. В настоящее время выделено более 70 типов вируса папилломы человека. Эпидемиологический анализ данных исследований на наличие вируса позволил выдвинуть концепцию об участии вирусов этой группы в



развитии эпителиальных злокачественных новообразований. Типы вируса папилломы человека, выявляемые при различных поражениях кожи и слизистых оболочек, приведены в табл. 2.25 [Villiers E. M., 1989].

Таблица 2.25

**Типы вируса папилломы человека, выявляемые при различных поражениях кожи и слизистых оболочек**

Клинические проявления	Тип вируса папилломы человека
<i>Кожные поражения</i>	
Подошвенные бородавки	1, 2, 4
Обычные бородавки	2, 4, 26, 27, 29, 57
Плоские бородавки	3, 10, 28, 49
Бородавки Бютчера	7
Бородавчатая эпидермодисплазия	5, 8, 9, 10, 12, 15, 19, 36
Небородавчатые кожные поражения	37, 38
<i>Поражения слизистых оболочек гениталий</i>	
Condylomata acuminata	6, 11, 42–44, 54
Некондилломатозные поражения	6, 11, 16, 18, 30, 31, 33–35, 39, 40, 42, 43, 51, 52, 55–59, 61, 64, 67–70
Карцинома	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 54, 56, 66, 68
<i>Поражения слизистых оболочек (не гениталий)</i>	
Папиллома гортани	6, 11, 30
Карцинома шеи, языка	2, 6, 11, 16, 18, 30

Более 90 % всех цервикальных карцином являются положительными на наличие вирусов папилломы человека. Наиболее часто в материале из опухолей шейки матки обнаруживаются 16-й и 18-й типы вирусов [Gabbot M. et al., 1997].

Вирусы папилломы человека типов 6 и 11 признаны этиологическим началом рецидивирующего респираторного папилломатоза, который обычно поражает носоглотку, трахею, гортань, может прогрессировать и стать распространенным бронхопульмональным заболеванием. В большинстве случаев папилломатоз является до-

брокачественным, однако может трансформироваться в плоскоклеточную карциному [Rady P. L. et al., 1997].

ДНК вируса папилломы человека 16-го типа часто выявляют в клетках уротелиальной карциномы при раке мочевого пузыря у пациентов с иммунодефицитом [Beltran L. A., Escudero A. L., 1997].

Методами обнаружения вирусов папилломы человека при перечисленных заболеваниях являются ПЦР и метод гибридизации. Материалом для исследования служат пунктаты опухолей, лимфатических узлов, отделяемое из влагалища, носа, трахеи, моча. Обнаружение в исследуемом материале вируса папилломы человека определенного типа еще не говорит о наличии у пациента злокачественной опухоли, но требует проведения гистологического исследования субстрата болезни и последующего динамического наблюдения за ним. Те женщины, у которых длительно персистирует вирус папилломы человека в шейке матки, по сравнению с теми, у которых нет этого вируса, имеют примерно в 65 раз более высокий риск развития рака шейки матки. Риск еще выше (130-кратный) у женщин старше 30 лет, если они инфицированы 16-м или 18-м типом вируса папилломы человека [Башмакова М. А., Савичева А. М., 2002].

Высказывается мнение о важной роли обнаружения вирусов папилломы человека в биоптатах лимфатических узлов при цервикальной карциноме для определения объема оперативного лечения и выявления интактных и пораженных метастазами лимфоузлов. При нахождении вирусов папилломы человека в лимфатических узлах, даже при отсутствии гистологических признаков их опухолевого поражения, результаты исследования необходимо расценивать как наличие метастазов в лимфатические узлы [Sopy T. et al., 1997].

По результатам исследований на вирус папилломы человека методом ПЦР, проведенных до и после лечения, можно оценивать его эффективность.

### **2.8.6. Обнаружение микобактерий туберкулеза**

**Микобактерии туберкулеза в материале в норме отсутствуют.**

В отличие от серологических методов диагностики туберкулезной инфекции, где выявляются антитела к микобактериям туберкулеза, ПЦР позволяет обнаружить непосредственно ДНК

микобактерий туберкулеза и количественно выразить их концентрацию в исследуемом материале. Исследуемым материалом может быть мокрота, бронхоальвеолярный лаваж, моча, пунктаты из различных органов и кист и др. Тест имеет видовую специфичность и высокую чувствительность (более 95 %). Микробиологическая диагностика туберкулеза является в настоящее время основным методом выявления больных и мониторинга эффективности лечения. Однако микробиологические анализы на туберкулез чрезвычайно долги по времени и имеют низкую чувствительность (выявление положительных проб не превышает 50 %). Диагностика туберкулеза ПЦР имеет большое диагностическое значение (время исследования 4–5 ч). В исследованиях В. И. Гольшевской и соавт. [1998] показано, что результаты ПЦР в 100 % случаев совпадали с положительными результатами микроскопии и бактериологического посева и свидетельствовали о наличии ДНК микобактерий в 65 % случаев у больных туберкулезом с отрицательным результатом микроскопии и посева. Для детекции ДНК достаточно, чтобы в исследуемом материале было около 10 микобактерий. Обнаружение ДНК микобактерии туберкулеза в материале с помощью ПЦР необходимо для:

- быстрого обнаружения источника инфекции;
- диагностики легочного туберкулеза;
- диагностики туберкулеза внелегочной локализации;
- контроля эффективности противотуберкулезного лечения;
- раннего выявления случаев рецидивов.

Вместе с тем следует отметить, что применение ПЦР для диагностики туберкулеза не заменяет бактериологический метод.

### 2.8.7. Обнаружение *Helicobacter pylori*

*Helicobacter pylori* в исследуемом материале в норме отсутствует.

*Helicobacter pylori* отводится ведущая роль в этиологии хронического гастрита, язвенной болезни, рака желудка. Колонизация эпителия слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки *Helicobacter pylori* является одним из основных факторов возникновения хронического воспаления, называемого гастритом типа В. На фоне гастрита типа В образуются пептические язвы желудка и двенадцатиперстной кишки. Исследования последних лет показали, что разви-

тие гастрита и язвы желудка связано в первую очередь с колонизацией слизистой токсигенными штаммами *Helicobacter pylori*, в то время как колонизация нетоксигенными штаммами только в небольшом проценте случаев приводит к развитию этих заболеваний. Токсигенность штаммов обусловлена продукцией вакуолярного цитотоксина, синтез которого связан с продукцией белка с молекулярной массой 120 000–128 000 Да, кодируемого геном CagA (cytoxin-associated gene A). Присутствие токсигенных штаммов является важным фактором перерождения язвы в аденокарциному. В настоящее время основной метод, позволяющий выявлять токсигенные штаммы, — бактериологический. Однако в последние годы разработаны три вида тест-систем, диагностирующих *Helicobacter pylori*:

- 1) на основе праймеров к последовательности 16S-рРНК, позволяющих идентифицировать *Helicobacter pylori* как вид;
- 2) на основе праймеров к последовательности CagA-гена;
- 3) на основе праймеров к последовательности Vac-гена, кодирующего синтез вакуолярного токсина.

Только две последние тест-системы позволяют выявлять токсигенные штаммы *Helicobacter pylori*.

Материалом для исследования служат биоптаты слизистой оболочки желудка или кал. Диагностическая чувствительность ПЦР для выявления *Helicobacter pylori* в биоптатах слизистой оболочки желудка составляет 88–95,4%, специфичность — 100% [Germani Y. et al., 1997; van der Wouden E. J. et al., 1999]; в копрофильтратах — 61,4–93,7 и 100% соответственно [Makrithathis A. et al., 1998; Watanabe T. et al., 1998].

В медицинской литературе, несмотря на то что проблема выявления *Helicobacter pylori* неоднократно освещалась, разворачиваются новые дискуссии о том, у кого надо проводить выявление бактерий и какими методами это делать. Для того чтобы помочь практикующим врачам разобраться в большом количестве методов диагностики *Helicobacter pylori* и выбрать необходимые, российской группой по изучению *Helicobacter pylori* в 1997 г. на основании Маастрихтских соглашений, принятых в 1996 г. (Current European concepts in management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report), были разработаны «Рекомендации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки». Рекомендации

адресованы практикующим врачам. Принципиальное значение для практики имеет разделение методики диагностики *Helicobacter pylori* до лечения (т. е. обнаружение инфекции для обоснования назначения лечения) и после проведения эрадикационной терапии (т. е. контроля успешности антибактериальной схемы).

Согласно Рекомендациям, первичная диагностика необходима тем больным, которым планируется антихеликобактерная терапия. *Helicobacter pylori* обнаруживается практически в 100 % случаев при хроническом гастрите и при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, поэтому для того чтобы начать лечение, достаточно подтвердить наличие бактерий одним из методов.

1. Бактериологический посев биоптата слизистой оболочки желудка на дифференциально-диагностическую среду.
2. Морфологический — «золотой стандарт» диагностики *Helicobacter pylori*: окраска бактерии в гистологическом препарате слизистой оболочки желудка по Гимзе, толудиновым синим, Warthin—Starry, Генте:
  - цитологический — окраска бактерий в мазках-отпечатках биоптатов слизистой оболочки желудка по Гимзе, Граму.
3. Дыхательный: определение в выдыхаемом больным воздухе изотопов  $^{14}\text{C}$  или  $^{13}\text{C}$ ; они выделяются в результате расщепления в желудке больного меченой мочевины под действием уреазы бактерий *Helicobacter pylori*.
4. Уреазный: определение уреазной активности в биоптате слизистой оболочки желудка путем помещения его в жидкую или гелеобразную среду, содержащую субстрат, буфер и индикатор.

Мастрихтские соглашения-2, принятые 21–22 сентября 2000 г., указывают на то, что назначению лечения должна предшествовать диагностика инфекции *Helicobacter pylori*. Диагноз инфекции должен быть осуществлен уреазным дыхательным тестом (с мочевиной, меченой  $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$ ) или с помощью обнаружения антигена *Helicobacter pylori* в кале. Всегда необходимо удостовериться в успешности эрадикационной терапии, используя или уреазный дыхательный тест, или диагностические мероприятия, требующие эндоскопии. Обнаружение антигена *Helicobacter pylori* в кале является альтернативой уреазному дыхательному тесту, если он недоступен.

В настоящее время существует большое количество терапевтических схем лечения инфекции *Helicobacter pylori*. В русской науч-

ной литературе для обозначения лечения в отношении *Helicobacter pylori* широкое распространение получил английский термин «эрадикация» — это полное уничтожение бактерии *Helicobacter pylori*, как вегетативной, так и кокковидной формы, в желудке и двенадцатиперстной кишке больного. Эрадикационная терапия не всегда оказывается успешной. Для ведущих научных центров эрадикация *Helicobacter pylori* выше 80 % является отличным показателем эффективности терапии [Григорьев П. Я., Яковенко Э. П., 1997; Григорьев П. Я. и др., 1998].

Одной из главных причин низкой эффективности схем антихеликобактерной терапии является резистентность штаммов *Helicobacter pylori* к антибактериальным препаратам, которые входят в состав этих схем. *Helicobacter pylori* имеет природную резистентность к следующим антибиотикам: ванкомицину, триметоприму, цефсулоидину и полимиксину [Megraud F., 1997]. Помимо природной существует приобретенная резистентность — первичная и вторичная. Первичная резистентность возникает в случае приема антибактериальных препаратов, не связанных с инфицированием *Helicobacter pylori*, вторичная — непосредственно в процессе лечения инфекции. Описана резистентность *Helicobacter pylori* к четырем группам антибиотиков: нитроимидазолам, макролидам, фторхинолонам и производным рифампицина. Для практикующего врача важно не только диагностировать инфекцию, вызываемую *Helicobacter pylori*, но и еще до начала лечения знать чувствительность возбудителя к тем или иным группам антибиотиков. Согласно данным Л. В. Кудрявцевой и соавт., резистентность штаммов *Helicobacter pylori* у взрослого городского населения России увеличилась с 1996 по 1998 г.: к метронидазолу с 36,1 до 56,9 %, к кларитромицину с 0 до 14,4 %; растет и число штаммов с полирезистентностью (6 %). Уровень резистентности штаммов *Helicobacter pylori* в г. Москве к метронидазолу составляет 56,6 %, к кларитромицину — 16,6 % [Кудрявцева Л. В. и др., 2000].

Вышеназванные Рекомендации указывают, что исследование чувствительности *Helicobacter pylori* к антибактериальным препаратам при первом назначении не обязательно [Malfertheiner P. et al., 1997]. Назначение схемы лечения в таком случае должно основываться на эпидемиологических данных и распространении резистентности в данной стране, а лучше — в регионе. В настоящее

время признано, что при распространенности резистентности к кларитромицину менее 15 %, а к метронидазолу менее 30 % все еще возможно применять эти препараты [Мегро Ф., 1999]. В табл. 2.26 приведены наши собственные данные по чувствительности культур *Helicobacter pylori* к различным антибактериальным препаратам.

Таблица 2.26

**Чувствительность культур *Helicobacter pylori* к антибактериальным препаратам**

Препарат	Штаммы <i>Helicobacter pylori</i> больных с заболеваниями желудка и двенадцатиперстной кишки (n = 366)			
	Чувствительные		Резистентные	
	количество	%	количество	%
Метронидазол	100	27,3	266	72,7
Кларитромицин	327	89,4	39	10,6
Ампициллин	360	98,4	6	1,6
Тетрациклин	366	100,0	0	0
Фуразолидон	366	100,0	0	0

ПЦР находит все большее практическое применение и в изучении феномена антибиотикоустойчивости штаммов *Helicobacter pylori*. С помощью произвольной праймерной ПЦР с использованием рестрикционных эндонуклеаз можно обнаружить точечные мутации в гене 23S рРНК, которые обуславливают устойчивость *Helicobacter pylori* к макролидам. Разрабатываются тест-системы с использованием ПЦР и для выявления точечных мутаций в генах, ответственных за устойчивость штаммов *Helicobacter pylori* к другим группам антибиотиков.

Диагностика эрадикации — контроль успешности проведения антибактериального лечения является одной из важнейших проблем и требует особых подходов [Барановский А. Ю. и др., 1999]. В «Рекомендациях по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки» определены следующие требования для диагностики эрадикации.

1. Диагностика эрадикации должна осуществляться не ранее 4–6 нед. после окончания курса антихеликобактерной терапии

либо окончания лечения любыми антибиотиками или анти-секреторными средствами сопутствующих заболеваний.

2. Диагностика эрадикации осуществляется, как минимум, двумя из указанных диагностических методов, причем при использовании методов непосредственного обнаружения бактерий в биоптате слизистой оболочки желудка (бактериологический, морфологический, уреазный) необходимо исследование 2 биоптатов из тела желудка и 1 биоптата из антрального отдела.
3. Цитологический метод для установления эрадикации не применим.

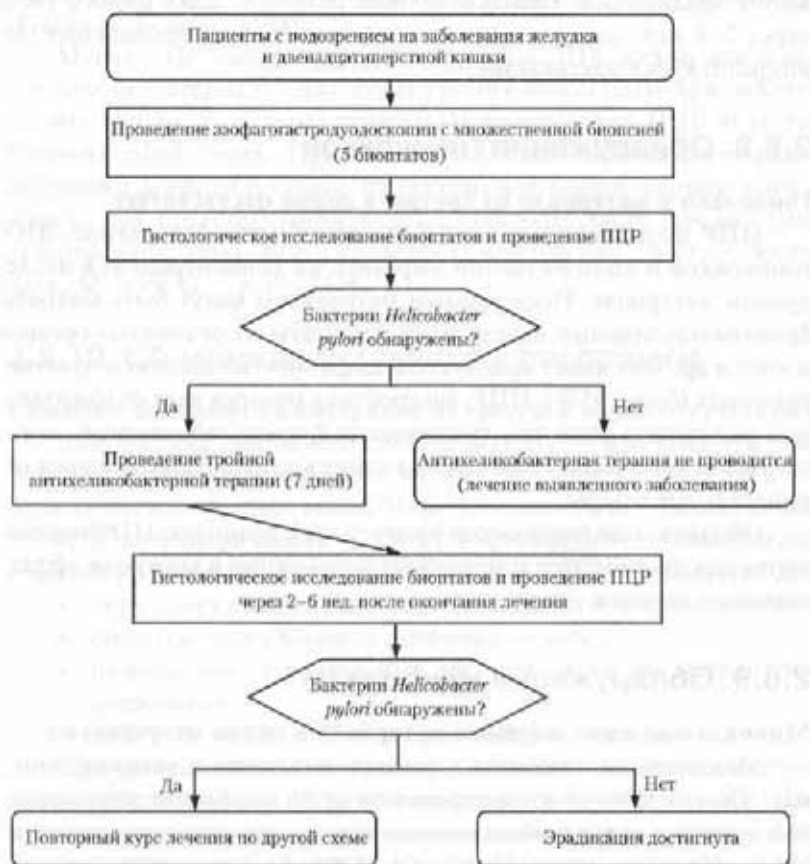
Гистологическое исследование биоптата является одним из компонентов «золотого диагностического стандарта», позволяющего с большой долей надежности установить наличие или отсутствие инфекции *Helicobacter pylori*. В то же время нельзя переоценивать возможности гистологического метода, который в ряде случаев может стать причиной недостаточно точного диагноза или ошибочной оценки эффективности антихеликобактерной терапии. Ограничения гистологического метода связаны с чисто технологической проблемой отмывания с люминальной поверхности слоя слизи в процессе фиксации и обезвоживания биопсийного кусочка слизистой оболочки желудка. В результате этого при оценке степени обсемененности по гистологическому препарату могут быть получены заниженные результаты, а при низкой, но сохранившейся после эрадикационной терапии степени обсемененности — и вообще ошибочная уверенность в эффективности проведенного лечения. Гистологическое изучение биоптата слизистой оболочки желудка в настоящее время обязательно для оценки патологического процесса в слизистой оболочке желудка, наличия и выраженности атрофии, метаплазии.

Метод ПЦР позволяет врачу быстро и эффективно (за несколько часов) не только получить ответ на вопрос, инфицирован больной *Helicobacter pylori* или нет, но и установить генотип штаммов *Helicobacter pylori* (CagA+ или CagA-). Определение генотипа *Helicobacter pylori* может стать в дальнейшем очень важным фактором для прогнозирования отдаленных исходов инфекции *Helicobacter pylori*. Большим достоинством метода ПЦР является то, что он позволяет эффективно оценивать эрадикацию в ранние сроки — через 2–4 нед. после окончания лечения. Это означает,



что практический врач может получить результаты проведенной антихеликобактерной терапии у пациента еще до окончания курса лечения язвенной болезни и, следовательно, внести изменения в проводимое лечение с целью предупреждения повторных рецидивов заболевания.

Комплексная диагностика и оценка эффективности лечения ассоциированных с *Helicobacter pylori* заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки приведены на схеме 2.15.



**Схема 2.15.** Комплексная диагностика и оценка эффективности лечения ассоциированных с *Helicobacter pylori* заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки

Основу схемы комплексной диагностики и оценки эффективности лечения ассоциированных с *Helicobacter pylori* заболеваний желудка и двенадцатиперстной кишки составляют два метода — гистологический и метод ПЦР. Получение положительного результата в любом из методов свидетельствует об инфицированности *Helicobacter pylori* и является показанием к проведению антихеликобактерной терапии. Только отрицательный результат обоих методов (ПЦР и гистологического исследования) будет указывать на достижение эрадикации. Положительный результат даже одного теста через 2–6 нед. после окончания лечения требует проведения повторного курса эрадикации.

### 2.8.8. Обнаружение гонококков

**Гонококки в материале из уретры в норме отсутствуют.**

ПЦР позволяет установить наличие непосредственно ДНК гонококков и количественно выразить их концентрацию в исследуемом материале. Исследуемым материалом могут быть мокрота, бронхоальвеолярный лаваж, моча, пунктаты из различных органов и кист и др. Тест имеет видовую специфичность и высокую чувствительность (более 95%). ПЦР-диагностика гонореи дает положительные результаты даже при хронических формах заболеваний, когда бактериоскопические и бактериологические исследования дают отрицательные ответы.

Обнаружение гонококков в материале с помощью ПЦР используется для диагностики гонококковой инфекции и контроля эффективности лечения.

### 2.8.9. Обнаружение микоплазм

**Микоплазмы в исследуемом материале в норме отсутствуют.**

Микоплазмы относятся к условно-патогенным микроорганизмам. Они персистируют и паразитируют на мембранах эпителиальных клеток и могут локализоваться как экстра-, так и интрацеллюлярно. Известно около 11 видов микоплазм, для которых человек является естественным хозяином. Из них клиническое значение имеют *M. hominis*, *M. pneumoniae*, *M. genitalium*, *M. fermentans*, *U. urealyticum*. Колонизируя слизистые поверхности, они вызывают хрони-

ческие воспалительные процессы урогенитального и респираторного трактов, являются этиологическим фактором ревматоидного артрита и вызывают септический артрит. В последние годы появились сообщения о роли микоплазм в развитии таких заболеваний, как острый гломеруло- и пиелонефрит. При негемококковом уретрите микоплазмы выделяют методом ПЦР у 37–43 % обследованных, при гломерулонефрите — у 47 %, при пиелонефрите — у 18 %, при склерозе предстательной железы — у 41 %, при сальпингитах и цервицитах — у 50 %, при послеродовом сепсисе — у 50 % больных [Пушин А. Е. и др., 1998].

Метод ПЦР выявляет непосредственно ДНК микоплазм в исследуемом материале. Для обнаружения микоплазм при заболеваниях легочной системы лучшим материалом для ПЦР является бронхиальный лаваж. При заболеваниях мочевыводящего тракта исследуют мочу, отделяемое из уретры, влагалища, цервикального канала, сок предстательной железы. Наиболее часто при урогенитальных инфекциях обнаруживается *U. urealyticum* — в 20–50 % случаев, *M. hominis* — в 10–25 %.

### 2.8.10. Обнаружение *Chlamidia trachomatis*

*Chlamidia trachomatis* в материале из уретры в норме отсутствуют.

Диагностика хламидиоза с помощью ПЦР — наиболее чувствительный и специфичный метод из всех, которые используют в лабораториях в настоящее время. Чувствительность метода составляет 95–97 %, а специфичность — 95–98 %. Обнаружение *Chlamidia trachomatis* в материале из уретры с помощью ПЦР используется для:

- скрининга в популяции с высоким риском инфицирования;
- обнаружения *Chlamidia trachomatis* в моче;
- разрешения сомнительных результатов других методов исследования;
- контроля эффективности проводимого лечения.

При урогенитальных инфекциях *Chlamidia trachomatis* в материале из уретры методом ПЦР обнаруживают в 15–40 % случаев. При ревматоидном артрите урогенитальную инфекцию выявляют у 84 % больных [Суханова Г. И., 1998]. Из них хламидиоз установлен у 28 % больных, *M. hominis* — у 13 %, *U. urealyticum* — у 10 %. Хламидии можно обнаружить у больных с ревматоидным артритом не только в отделяемом из урогенитального тракта, но и в жидкости из суставов.

За последние годы появилось немало работ, где убедительно показана роль *Chlamidia trachomatis* в генезе хронического простатита [Гомберг М. А., Ковалык В. П., 2002]. Наибольший интерес в этом плане представляют случаи абактериального хронического простатита. Материалом для исследования могут служить секрет предстательной железы, полученный после ее массажа, эякулят, биопсийный материал.

Сравнительная оценка различных методов диагностики хламидийной инфекции представлена в табл. 2.27.

Таблица 2.27

**Сравнительная оценка различных методов диагностики хламидийной инфекции**

Метод	Достоинства	Недостатки
Морфологический (цитологический) метод (окраска по Романовскому—Гимзе)	Простота выполнения, доступность для большинства лабораторий	Низкая чувствительность, положительный результат примерно у 10–20 % носителей хламидий
Прямой иммунофлюоресценции	Обнаружение хламидий непосредственно в местах локализации по специфической люминесценции комплекса антиген—антитело; высокая специфичность метода	Возможность ложноположительного результата; субъективность оценки; утомительность просмотра большого числа препаратов
ИФА	Автоматизация процесса; возможность скрининга большого числа людей; объективный учет результатов	Недостаточно высокая чувствительность
Культуральный (бактериологический)	Высокоспецифичный метод — «золотой стандарт»	Высокая трудоемкость и дороговизна
ПЦР	Очень высокие чувствительность и специфичность, которые позволяют обнаружить хламидии по нескольким молекулам ДНК	Высокие требования к качеству реактивов и квалификации исследователя; необходимость разбиения отдельных этапов работы в разных комнатах

Окончание табл. 2.27

Метод	Достоинства	Недостатки
Серологический (обнаружение в крови антител)	Возможность скрининга больших групп населения и отбор серопозитивных лиц для дальнейшего обследования	Положительные результаты у лиц, перенесших в прошлом хламидиоз

### 2.8.11. Обнаружение токсинов *Clostridium difficile*

**В кале токсины *Clostridium difficile* в норме отсутствуют.**

Широкое применение антибиотикотерапии для лечения различных заболеваний сопряжено с рядом серьезных последствий, одно из них — проблема антибиотик-ассоциированных поражений кишечника. Самым распространенным вариантом антибиотик-ассоциированных поражений кишечника является синдром диареи, который может протекать по типу кратковременной купирующейся диареи, колита и с развитием псевдомембранозного колита. Наиболее значимым патогеном, ответственным за развитие нозокомиальной диареи, является спорообразующий анаэроб *Clostridium difficile*. Удельный вес *Cl. difficile* в развитии различных вариантов антибиотик-ассоциированных поражений кишечника составляет при кратковременной диарее — 20 %, антибиотик-ассоциированном колите — 75 %, псевдомембранозном колите — 90 % [Малов В., 2000]. Кратковременная диарея вследствие короткого периода течения (развивается на 1–3-й день от начала лечения и купируется в течение 2 сут после отмены антибиотиков даже без специального лечения) и невыраженной симптоматики в большинстве случаев этиологически не верифицируется. В основе кратковременной диареи, вероятнее всего, лежат метаболические расстройства. Важнейшим условием развития колита, обусловленного *Cl. difficile*, является нарушение микробиоценоза толстой кишки, характеризующееся угнетением индигенной анаэробной микрофлоры. Только в этой ситуации *Cl. difficile* способна колонизировать слизистую оболочку толстой кишки, и только токсигенные штаммы способны вызвать поражение кишечника. Ведущими факторами патогенности *Cl. difficile* служат экзотоксины: токсин А, являющийся энтеротоксином, ответственным за развитие воспалительной реакции и секрецию

жидкости, и токсин В — мощный цитотоксин, обладающий цитопатическим эффектом. Поскольку псевдомембранозный колит — наиболее тяжелая форма инфекции, обусловленной *Cl. difficile*, с возможным неблагоприятным прогнозом, повышенное внимание уделяется диагностике именно этой формы антибиотик-ассоциированных поражений кишечника.

Для диагностики антибиотик-ассоциированных поражений кишечника используют различные лабораторные методы. Выделение возбудителя (копрокультура) имеет вспомогательное значение (чувствительность при псевдомембранозном колите — 89–100 %, специфичность — 84–99 %), так как многие штаммы *Cl. difficile* не токсигенны (только 75 % изолятов продуцируют токсин) [Goldman L., Bennett J. C., 2000]. Кроме того, более 50 % новорожденных, менее 1 % здоровых взрослых и около 25 % пациентов, недавно получавших антибиотики, являются носителями *Cl. difficile*. В связи с этим основной метод диагностики — обнаружение токсинов *Cl. difficile* в стуле. «Золотым стандартом» в диагностике псевдомембранозного колита является обнаружение токсина А в стуле в тесте цитотоксичности культуры клеток (чувствительность — более 94 %, специфичность — 99 %). Широко используемый в практике микробиологических лабораторий экспресс-тест латекс-агглютинации сегодня не может расцениваться как базовый метод для диагностики псевдомембранозного колита, поскольку обладает довольно низкой чувствительностью и специфичностью (56–92 и 80–96 % соответственно) [Wallach J. M. D., 1996]. Наборы на основе ИФА и метода иммунохроматографии позволяют обнаруживать токсины А и В в стуле и обладают достаточно высокой чувствительностью и специфичностью (83–96 и 100 % соответственно).

В последние годы разработан метод ПЦР для обнаружения токсинов *Cl. difficile* в стуле как альтернатива тесту цитотоксичности культуры клеток. Чувствительность ПЦР при псевдомембранозном колите составляет 97 %, специфичность — 100 %.

### 2.8.12. Обнаружение метициллинрезистентных стафилококков

Стафилококки — грамположительные шаровидные бактерии, 0,5–1,5 мкм в диаметре, неподвижны, образуют скопления, напомина-

ющие гроздья винограда, что позволяет легко отличить их от других бактерий при микроскопическом исследовании. Стафилококки способны поражать практически любые ткани организма человека. Инфекции, вызываемые золотистым стафилококком (*Staphylococcus aureus*), включают более 100 нозологических форм.

Стафилококки синтезируют большой спектр ферментов и токсинов, что используется для их идентификации. Для клинической практики наибольшее значение имеют стафилококки, синтезирующие энтеротоксины и ферменты  $\beta$ -лактамазы. Это обусловлено тем, что энтеротоксины (А, В, С<sub>1-2</sub>, D, Е) ответственны за развитие острых пищевых отравлений (А и D) и синдрома токсического шока (В и С), а  $\beta$ -лактамазы (известно более 100) обладают способностью разрушать активный центр молекул  $\beta$ -лактамовых антибиотиков, обеспечивая устойчивость бактерий к проводимому лечению.

Синтез  $\beta$ -лактамаз кодируют плазмидные гены, которые у стафилококков представлены внехромосомными молекулами ДНК. Механизм резистентности бактерий обусловлен разрушением ферментами  $\beta$ -лактамового кольца молекул антибиотиков. Стафилококки секретируют ферменты после попадания антибиотика в окружающую среду (т. е.  $\beta$ -лактамазы более интенсивно образуются в присутствии антибиотика), в результате чего концентрация препарата снижается, что обуславливает эффект резистентности.

В отношении стафилококка проблема проведения адекватной антибактериальной терапии носит еще более сложный характер. На фоне длительного применения антибактериальных препаратов (пенициллина) произошла селекция ряда штаммов золотистого стафилококка, резистентных к антибиотикам группы пенициллина, и их доминирование в популяции бактерий. Впервые проблема устойчивости *Staphylococcus aureus* к антибиотикам возникла в отношении метициллина, поэтому эти штаммы золотистого стафилококка получили широко известную в настоящее время аббревиатуру MRSA — methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (метициллинрезистентный золотистый стафилококк). Метициллинрезистентные штаммы содержат дополнительный ген, кодирующий синтез пептидогликановой транспептидазы (пенициллинсвязывающий белок), что обеспечивает повышенную устойчивость к  $\beta$ -лактамам антибиотикам и цефалоспорином. В литературе можно встретить обозначение MRSE — methicillin resistant *Staphylococcus epidermi-*

dis (метициллинрезистентный эпидермальный стафилококк), что обусловлено высокой устойчивостью и данного штамма к антибиотикам пенициллинового ряда.

Лекарственная устойчивость — важнейший патогенетический фактор стафилококковых инфекций, который затрудняет элиминацию возбудителя, стабилизирует очаговые процессы и повышает вероятность развития осложнений. Своевременное выявление MRSA/MRSE-штаммов стафилококка позволяет повысить эффективность лечения больных.

Традиционно для выявления стафилококков в исследуемом материале и установления чувствительности к антибактериальным препаратам используются методы классической бактериологии. При определении чувствительности стафилококков к антибактериальным препаратам вместо метициллина используют оксациллин, который выпускается промышленностью и более устойчив после разведения, поэтому в литературе можно встретить аббревиатуру MR/OR — methicillin (oxacillin) resistant. Продолжительность бактериологического исследования с выделением чистой культуры стафилококка и определением чувствительности к антибактериальным препаратам составляет 3–9 сут, что при наличии у пациента тяжелой формы инфекции не устраивает клинициста.

В настоящее время разработаны тест-системы на основе метода ПЦР, позволяющие одновременно выявлять в исследуемом материале (смывы с кожи и слизистых оболочек, мокрота, бронхолегочной лаваж, отделяемое ран, кровь, СМЖ и др.), а также чистой культуре (время ее получения — 1–7 сут) гены стафилококков, отвечающие за синтез 5 наиболее важных стафилококковых энтеротоксинов, и mecA-ген, обеспечивающий метициллинорезистентность бактерий. Результаты исследования можно получить в течение 2–4 ч.



## Приложения

### ПРИЛОЖЕНИЕ 1

#### Диагностические критерии аутоиммунного гепатита [МакНелли П. Р., 1999]

Проявление, признаки	Балл	Проявление, признаки	Балл
<i>Клинические проявления</i>		<i>Аутоантитела</i>	
Пол:		Титры АНА, АГМ или антитела к микросомальному антигену печени:	
• мужской	0	> 1:80	+3
• женский	+2	1:80	+2
Иммунные заболевания	+1	1:40	+1
		< 1:40	0
		Прочие маркеры АМА	
		• присутствуют	-2
		• отсутствуют	0
<i>Эпидемиологические признаки</i>		<i>Патоморфологические изменения</i>	
Переливание крови/препаратов крови:		Ступенчатые некрозы и лобулярный гепатит + мостовидные некрозы	+3
• да	-2	Только ступенчатые некрозы	+2
• нет	+1	Розетки	+1
Злоупотребление алкоголем (с учетом дозы):		Выраженная плазмоклеточная инфильтрация	+1
• пьющие по выходным дням	0	Изменения желчных протоков:	
• до 60 г этанола ежедневно	-1	• незначительные	-1
• более 60 г этанола ежедневно	-2	• выраженные	-3
• не пьющие	+2	Ответная реакция на лечение:	
Антитела к вирусу гепатита С (IgM)	-3	• выражена	+2
HBsAg или анти-HBc класса IgM	-3	• слабо выражена	0
РНК вируса гепатита С	-3	• нет реакции	-2
Антитела к вирусу гепатита С	-2	Решившие после окончания терапии	+3
Другие вирусные маркеры	-3		
Отсутствие вирусных маркеров	+3		

Окончание табл.

Проявление, признаки	Балл	Проявление, признаки	Балл
<i>Лабораторные признаки</i>			
HLA B8-DR3 или DR4	+1		
Глобулин, Ig или $\gamma$ -глобулин:			
• выше в 2 раза	+3		
• выше в 1,5–2 раза	+2		
• выше в 1–1,5 раза	+1		
• ниже нормы	0		
Отношение щелочная фосфатаза/АСТ:			
• повышено менее чем в 3 раза	+2		
• повышено более чем в 3 раза	-2		
<i>Общий балл</i>			
Перед лечением	Окончательный диагноз	> 15	
	Предполагаемый диагноз	10–15	
После лечения	Окончательный диагноз	> 17	
	Предполагаемый диагноз	12–17	

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Показания к терапии кортикостероидами аутоиммунного гепатита и критерии выбора схемы лечения [МакНелли П. Р., 1999]

Показания к лечению	Критерии выбора схемы лечения
<i>Абсолютные</i>	
АСТ превышает нормальные показатели более чем в 10 раз	Тяжелая цитопения
АСТ превышает нормальные показатели более чем в 5 раз, $\gamma$ -глобулин — более чем в 2 раза	Беременность
Мостовидные или сливные некрозы	Новообразования
Потеря трудоспособности	Кратковременное (< 6 мес.) лечение
<i>Относительные</i>	
Неуклонное прогрессирование заболевания	Предпочтительная схема
АСТ превышает нормальные показатели более чем в 5, но менее чем в 10 раз, с $\gamma$ -глобулином, превышающим нормальные показатели менее чем в 2 раза	Женщины в постменопаузе
Слабо или умеренно выраженные симптомы	Ожирение
	Угри
	Лабильная гипертензия

Показания к лечению	Критерии выбора схемы лечения
<i>Показания отсутствуют</i>	
Симптомы выражены минимально или отсутствуют, перипортальный гепатит АСТ превышает нормальные показатели менее чем в 5 раз Неактивный цирроз печени или цирроз с минимальной активностью Печеночная недостаточность с минимальной или незначительной активностью воспалительного процесса	Эмоциональная неуравновешенность Остеопороз Лабильный диабет Продолжительное (> 6 мес.) лечение

### ПРИЛОЖЕНИЕ 3

#### Диагностические критерии СКВ [Tan E. M. et al., 1982]

Критерий	Характеристика
Эритема в виде бабочки	Фиксированная эритема, плоская или возвышающаяся, в области щек, чаще всего при свободных носогубных складках
Дискоидные изменения кожи	Эритематозные, приподнимающиеся кожные пятна со спаянными кератозными участками и фолликулярными пробками; атрофические рубцы могут проявляться в старых повреждениях
Фотосенсибилизация	Покраснение кожи вследствие необычной реакции на солнечный свет (чаще всего по данным анамнеза)
Изъязвления в полости рта или носоглотке	Обычно безболезненные
Неэрозивный артрит	2 или более периферических сустава
Серозит	Пleurит или перикардит
Вовлечение почек	Протеинурия > 0,5 г/сут или цилиндрурия
Вовлечение ЦНС	Судорожные припадки или психозы
Изменения крови	Гемолитическая анемия или лейкопения < $4,0 \times 10^9/\text{л}$ , лимфопения < $1,0 \times 10^9/\text{л}$ или тромбоцитопения < $100,0 \times 10^9/\text{л}$ , не индуцированная медикаментами

Окончание табл.

Критерий	Характеристика
Иммунологические изменения	Положительный тест на LE-клетки или повышенный уровень антител к нативной ДНК или антител к Sm-ядерному антигену, или ложноположительный тест на сифилис в течение 6 мес. и подтвержденный методом иммобилизации бледной трепонемы
АНА	Повышение титра антиядерных антител методом иммунофлюоресценции или сходным методом

Достоверный диагноз СКВ наиболее вероятен при наличии 4 и более критериев, при этом чувствительность и специфичность составляют 96 %.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 4

### Диагностические критерии инфекционного эндокардита [Armstrong D., Cohen J., 1999]

#### Большие критерии

1. Положительная гемокультура, характерная для инфекционного эндокардита:
  - типичные для инфекционного эндокардита микроорганизмы из двух отдельных гемокультур:
    - *Viridans streptococci*, *Streptococcus bovis*, НАСЕК-группа или
    - внегоспитальные штаммы *Staphylococcus aureus* или энтерококка при отсутствии первичного очага.
2. Персистирующая бактериемия при условии, что:
  - интервал между забором крови для исследования гемокультуры составляет более 12 ч;
  - положительны все три или большинство из четырех отдельно взятых гемокультур при интервале времени между первым и последним забором крови менее 1 ч.
3. Доказательства поражения эндокарда:
  - характерные для инфекционного эндокардита эхокардиографические признаки:

- внутрисердечные массы, выявляемые на клапане, или подклапанных структурах, или по ходу струи регургитации, или на имплантированном материале при отсутствии альтернативного анатомического объяснения;
- абсцесс или дисфункция протеза клапана;
- новая клапанная регургитация (увеличение или изменение предшествующего аускультативного шума недостаточно).

### Малые критерии

1. Предрасполагающие факторы:
  - предшествующие заболевания сердца;
  - внутривенное введение препаратов.
2. Лихорадка не менее 38 °С.
3. Сосудистые феномены:
  - тромбоэмболический синдром;
  - септические инфаркты легких;
  - микотическая аневризма;
  - геморрагический инсульт;
  - конъюнктивальные геморрагии;
  - Janeway-феномен;
  - иммунологические феномены:
    - гломерулонефрит;
    - узелки Ослера;
    - пятна Рота;
    - наличие РФ.
4. Микробиологические доказательства:
  - положительная гемокультура, не соответствующая большим критериям:
    - однократное выделение из крови коагулазанегативных стафилококков и микроорганизмов, не относящихся к характерным возбудителям инфекционного эндокардита;
  - серологические доказательства активной инфекции, вызванной микроорганизмом, характерным для инфекционного эндокардита.
5. Эхокардиографические данные, согласующиеся с возможным инфекционным эндокардитом, но не отвечающие большим критериям.

**Диагностическое правило**

Определенный инфекционный эндокардит может быть диагностирован при наличии гистоморфологических или клинических критериев:

1. Гистоморфологические критерии:
  - идентификация микроорганизмов из вегетаций, эмболов, внутрисердечных абсцессов, наличие вегетаций, внутрисердечных абсцессов, гистологически доказывающих активный эндокардит.
2. Клинические критерии:
  - 2 больших критерия, или
  - 1 большой и 3 малых, или
  - 5 малых.

**ПРИЛОЖЕНИЕ 5**

**Амилоидные фибриллярные протенины и клинические синдромы**  
 [Rich R. R. et al., 2001]

Амилоидный протенин	Белок-предшественник	Клинический синдром
<i>Иммунные/воспалительные</i>		
AL	Igλ, Igκ	Идиопатический (первичный) амилоидоз; множественная миелома
AH	γ <sub>1</sub> -тяжелая цепь	Идиопатический (первичный) амилоидоз; множественная миелома
AA	Белок сывороточного амилоида A	Реактивный (вторичный) амилоидоз
Aβ-2M	β <sub>2</sub> -МГ	Хроническая гемодиализная артропатия
Acy	Цистатин C	Наследственная церебральная ангиопатия с кровотечением
ALys	Лизоцим	Не нейропатический наследственный амилоидоз с поражением почек
AFibA	Фибриноген Aα	Не нейропатический наследственный амилоидоз с поражением почек
<i>Эндокринные гормоны</i>		
AIAPP	Островковый амилоидный полипептид	Сахарный диабет типа 2

Окончание табл.

Амилоидный протеин	Белок-предшественник	Клинический синдром
AANF	Атриальный натрий-уретический фактор (полипептид)	Синильный сердечный амилоидоз
ACal	Прокальцитонин	Медуллярный рак щитовидной железы
APro	Пролактин	
AIns	Инсулин, порцин	Ятрогения
<i>Транспортные молекулы</i>		
ATTR	Транстиретин	Семейная амилоидная полинейропатия Синильный сердечный амилоидоз
AApoA1	Аполипопротеин A1	Семейная амилоидная полинейропатия
ALac	Лактоферрин	Семейный субэпителиальный роговичный амилоидоз, амилоидоз семенных пузырьков
<i>Нервная система</i>		
Aβ	Aβ-белок-предшественник	Болезнь Альцгеймера
APtP	Прионовый протеин	Спонгиозформная (губчатая) энцефалопатия
<i>Клетки действия</i>		
AGel	Гелсолин	Семейная амилоидная полинейропатия

## Список литературы

- Аковбян В. А., Дмитриев Г. А.* Комментарий к приказу Минздрава России от 26.03.2001 г. № 87 «О совершенствовании серологической диагностики сифилиса» // *Здравоохранение*. — 2001. — № 6. — С. 103–107.
- Аметов А. С., Воронецкий И. Б., Ольшанский В. О. и др.* Дифференциальная диагностика рака щитовидной железы с помощью радиоиммунологического анализа // *Мед. радиол.* — 1990. — № 2. — С. 11–14.
- Андреева Н. Е., Чернохвостова Е. В.* Иммуноглобулинопатии. — М.: Медицина, 1985.
- Аруин Л. И., Капуллер Л. Л., Исаков В. А.* Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. — М: Триала-Х, 1998. — 483 с.
- Аруин Л. И.* *Helicobacter pylori* и предраковые изменения желудка // Диагностика и лечение заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori* / II Международный симпозиум «Современные проблемы физиологии и патологии пищеварения». — М., 1999. — С. 33–37.
- Барановский А. Ю., Шукина О. Б., Назаренко Л. И.* Эрадикационная терапия *Helicobacter pylori* // *Клини. фармакол. и тер.* — 1999. — Т. 8. — № 1. — С. 54–58.
- Башмакова М. А., Савичева А. М.* Папилломавирусная инфекция. — М.: Медицинская книга; Н. Новгород: Изд-во НГМА, 2002. — 21 с.
- Белокуров Ю. Н., Граменицкий А. Б., Молодкин В. М.* Сепсис. — М.: Медицина, 1983. — 128 с.
- Белокуров Ю. Н., Рыбачков В. В., Белокуров С. Ю.* Структура эндотоксикации при перитонитах и пути ее устранения // *Вестн. хир. им. И. И. Грекова*. — 1987. — № 10. — С. 42–46.
- Белоцкий С. М.* Иммунология хирургической инфекции: Науч. обзор. — М.: МЗ СССР, 1980.
- Бергман Р. Е., Воган В. К.* (ред.) Педиатрия: Руководство: В 8 т. Пер. с англ. — Т. 6: Болезни иммунной системы, эндокринно-обменные заболевания, детская гинекология. — М., 1994. — 576 с.
- Биргер М. О.* (ред.) Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. 3-е изд. — М.: Медицина, 1982.
- Беркоу Р.* (гл. ред.) Руководство по медицине: Диагностика и терапия. Пер. с англ. — М.: Мир, 1997. — Т. 1.



- Блюгер А. Ф., Новицкий И. И.* Практическая гепатология. — Рига, 1984.
- Битти А. Д.* Диагностические тесты в гастроэнтерологии. Пер. с англ. — М., 1995. — 222 с.
- Богун Т. А., Богун Е. А.* Предупреждение развития рака молочной железы: тамоксифен и профилактическая мастэктомия // Международный журнал медицинской практики. — 2001. — № 2. — С. 63–69.
- Боун Р.* Сенсис и септический шок // Актуальные проблемы анестезиологии и реаниматологии: Освежающий курс лекций. Пер. с англ.; Под ред. Э.В. Недашковского. — М., 1995. — С. 125–140.
- Брондз Б. Д.* Т-лимфоциты и их рецепторы в иммунологическом распознавании. Пер. с англ. — М.: Наука, 1987.
- Булычева Т. И., Самойлова Р. С., Саркисян Г. П., Новикова М. С.* Диагностическое и прогностическое значение иммунофенотипирования при гемобластозах и хронических лимфопролиферативных заболеваниях // Клин. лаб. диагн. — 1995. — № 6. — С. 75–76.
- Бухарин О. В., Каган Ю. Д., Бурмистрова А. Л.* Сальмонеллы и сальмонеллезы. — Екатеринбург: Уро РАН, 2000. — 257 с.
- Васнева Ж. П., Торопова Н. Е., Шаранов В. Ф.* Комплексное иммунологическое обследование больных с аллергическими заболеваниями // Клин. лаб. диагн. — 1997. — № 3. — С. 4–8.
- Вахарловский В. Г., Горбунова В. Н., Кашеева Т. К.* Исследование содержания альфа-фетопротеина в сыворотке крови беременных как критерия наличия врожденных пороков развития у плода // Акуш. и гинекол. — 1995. — № 4. — С. 22–24.
- Вест С. Дж.* Секреты ревматологии. Пер. с англ. — М.; СПб.: БИНОМ; Невский Диалект, 1999. — 768 с.
- Вермель А. Е.* Криоглобулины и криоглобулинемия // Клин. мед. — 2000. — № 12. — С. 14–20.
- Возианов А. Ф., Бутенко А. К., Зак К. П.* Цитокины. Биологические и противоопухолевые свойства. — Киев: Наук. думка, 1998. — 316 с.
- Валкова М. А.* (ред.) Клиническая онкогематология: Руководство для врачей. — М.: Медицина, 2001. — 576 с.
- Воробьев А. И., Яхнина Е. И., Самойлова Р. С.* Принципы дифференциальной диагностики зрелоклеточных лимфатических опухолей // Тер. арх. — 1995. — Т. 67. — № 7. — С. 3–8.
- Воробьев А. И.* Образ болезни (к диагностике опухолей крови) // Клин. лаб. диагн. — 1995. — № 6. — С. 24–28.
- Вуд М., Бани П.* Секреты гематологии и онкологии. Пер. с англ. — М.: БИНОМ, 1997. — 560 с.
- Вудли М. Б., Уэлан А.* (ред.) Терапевтический справочник Вашингтонского университета. Пер. с англ.; Под ред. В. А. Аначина. — М.: Практика, 1995. — 831 с.

- Голеников А. Г., Митерева Г. Ю., Попов В. М. и др. Клиническое значение иммунологического фенотипа неходжкинских лимфом // Тер. арх. — 1995. — Т. 67. — № 7. — С. 30–33.
- Гомберг М. А., Ковалык В. П. Хламидиоз и простатиты // Инфекции, передаваемые половым путем. — 2002. — № 4. — С. 3–9.
- Григорьев П. Я., Яковенко Э. П. Сравнительная эффективность медикаментозных комбинаций с кларитромицином по эрадикации *Helicobacter pylori* при язвенной болезни // Рос. гастроэнтеролог. журн. — 1997. — № 2. — С. 31–35.
- Григорьев П. Я., Вилков А. И., Яковенко Э. П. и др. Лечение язвенной болезни, ассоциированной с *Helicobacter pylori* // Рос. мед. журн. — 1998. — № 1. — С. 23–27.
- Дедов И. И. (ред.) Болезни органов эндокринной системы: Руководство для врачей / И. И. Дедов, М. И. Балаболкин, Е. И. Марова и др. — М.: Медицина, 2000. — 568 с.
- Дедов И. И., Мельниченко Г. А. Клинические критерии, гормональные и биохимические маркеры в диагностике и лечении эндокринопатий // Клин. лаб. диагн. — 1995. — № 6. — С. 46–56.
- Делекторский В. В., Яшкова Г. П., Лупан И. Н. и др. Семейный хламидиоз: Пособие по клинике, диагностике и лечению. — М.: Медслайд: Центр-мед, 1996.
- Дехнич А. В. Клинические и микробиологические аспекты криптоспориридоза // Клинич. микробиол. и антимикроб. химиотер. — 2000. — Т. 2. — № 3. — С. 51–58.
- Дуайт А., Джонсон Р. Лабораторная диагностика инфекций, вызванных стрептококком группы А. Всемирная организация здравоохранения, Женева, 1998. — 118 с.
- Дунаевский О. А. Дифференциальная диагностика заболеваний печени. — Л.: Медицина, 1985. — 264 с.
- Ермолин Г. А., Азова Е. А., Шиленок И. Г. и др. Содержание плазменного фибронектина у новорожденных детей с гнойно-воспалительными заболеваниями // Тер. арх. — 1986. — Т. 58. — № 3. — С. 102–105.
- Зинченко А. П. Острые нейронные инфекции у детей: Руководство для врачей. — Л.: Медицина, 1986. — 320 с.
- Златкина А. Р., Исаков В. А., Ивашиков И. О. Кандидоз кишечника как новая проблема гастроэнтерологии // Рос. мед. журн. — 2001. — № 6. — С. 33–40.
- Змушко Е. И., Белозеров Е. С., Митин Ю. А. Клиническая иммунология: Руководство для врачей. — СПб.: Питер, 2001. — 576 с.
- Иванова В. В. (ред.) Инфекционные болезни у детей: Учебное пособие. — М.: МИА, 2002. — 928 с.
- Ивашкевич Г. А., Сухомлинов Б. Ф., Химка А. С. и др. Катионные белки крови при гнойных и септических процессах // Вестн. хирур. им. И. И. Грекова. — 1986. — № 10. — С. 10–15.

- Ивашкин В. Т., Буеверов А. О., Лапина Т. Л.* Гастроэнтерология нового века: проблемы диагностики // Тер. арх. — 2001. — Т. 73. — № 8. — С. 33–36.
- Ивашкин В. Т., Буеверов А. О.* Аутоиммунные заболевания печени в практике клинициста. — М.: ООО «Издат. Дом «М-Вести», 2001. — 102 с.
- Ильина Т. В., Демина А. А.* Бактериоскопия в диагностике менингококковой инфекции // Эпидемиология и инфекц. болезни. — 1996. — № 2. — С. 35–39.
- Ильина Е. Н., Говорун В. М., Ивашиков И. О.* Некоторые аспекты лабораторной диагностики вирусных гепатитов В и С // Тер. арх. — 2003. — № 4. — С. 84–86.
- Йесер Л.* Клиническая иммунология и аллергология. Пер. с англ. Т. 1–3. — М.: Медицина, 1990.
- Йена С. С. К., Джаффе Р. Б.* (ред.) Репродуктивная эндокринология: В 2 т. Пер. с англ. — М.: Медицина, 1998.
- Казанцев А. П.* Эпидемический паротит. — Л.: Медицина, 1988. — 174 с.
- Калашикова Л. А., Насонов Е. Л., Александрова Е. Н. и др.* Антитела к фосфолипидам и ишемические нарушения мозгового кровообращения в молодом возрасте // Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова. — 1997. — Т. 97. — № 6. — С. 59–65.
- Камышиков В. С.* О чем говорят медицинские анализы: Справочное пособие. — Минск: Беларуская навука, 1998. — 189 с.
- Камышиков В. С.* Клинические лабораторные тесты от А до Я и их диагностические профили: Справочное пособие. — Минск: Беларуская навука, 1999. — 415 с.
- Карпищенко А. И.* (ред.) Медицинская лабораторная диагностика (программы и алгоритмы): Справочник. — СПб.: Интермедика, 1997. — 304 с.
- Карпищенко А. И.* (ред.) Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник. Медицинские лабораторные технологии. Т. 1. — СПб.: Интермедика, 1998. — 408 с.
- Карпищенко А. И.* (ред.) Медицинские лабораторные технологии и диагностика: Справочник. Медицинские лабораторные технологии. Т. 2. — СПб.: Интермедика, 1999. — 656 с.
- Кашкин К. П., Бехало В. А.* Стратегия иммунологических исследований в клинике инфекционных болезней: Лекция // Клин. лаб. диагн. — 2004. — № 3. — С. 23–34.
- Кетлинский С. А., Калинина Н. М.* Цитокины мононуклеарных фагоцитов в регуляции реакции воспаления и иммунитета // Иммунология. — 1996. — № 3. — С. 30–44.
- Ковальчук Л. В., Чередеев А. Н.* Патогенетический принцип оценки иммунной системы человека: дальнейшее развитие // Клин. лаб. диагн. — 1995. — № 6. — С. 78–80.

- Кожемякин Л. А., Бондаренко И. Г., Тютин А. А.* СПИД. Синдром приобретенного иммунодефицита. — Л.: Знание, 1990.
- Козинец Г. И.* Физиологические системы организма человека, основные показатели. — М.: Триала-Х, 2000. — 336 с.
- Козлова В. И., Пухнер А. Ф.* Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий. — М.: Авиценна, 1995. — 316 с.
- Королюк А. М., Сбойчаков В. Б.* Медицинская вирусология. Ч. 2 / Под ред. А. М. Королюка и В. Б. Сбойчакова. — СПб., 2002. — 163 с.
- Котова Т. С., Саламатова С. А., Алимова Т. Н.* Иммунохимическое исследование белков мочи при иммуноглобулинопатиях // Клин. лаб. диагн. — 1995. — № 6. — С. 113–114.
- Коротяев А. И., Бабичев С. А.* Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: Учебник. — СПб.: Специальная литература, 1998. — 592 с.
- Кудрявцева Л. В., Минаев В. И.* Быстрый серологический тест «FastRead» для диагностики *H. pylori* у постели больного: Российский опыт // Диагностика и лечение заболеваний, ассоциированных с *Helicobacter pylori* / I Международный симпозиум «Современные проблемы физиологии и патологии пищеварения». — М., 1998. — С. 4.
- Кудрявцева Л. В., Довгаль С. Г., Щербаков П. Л., Иваников И. О.* Первичная антибиотикорезистентность штаммов *Helicobacter pylori*, выделенных в г. Москве и г. Санкт-Петербурге // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2000. — Т. 10. — № 2. — Прил. № 10. — С. 41.
- Кулаков В. И., Голубев В. А.* Основные направления научных исследований по гинекологии в 90-е годы // Акуш. и гинекол. — 1995. — № 3. — С. 3–5.
- Кушлинский Н. Е.* Тканевые маркеры опухолевого роста при раке молочной железы // Клин. лаб. диагн. — 2002. — № 9. — С. 3–7.
- Лавин Н.* (ред) Эндокринология. — М.: Практика, 1999. — 1128 с.
- Лапина Т. Л.* Основные принципы диагностики *Helicobacter pylori* // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 1999. — Т. 9. — № 2. — С. 41–45.
- Лебедев К. А., Понякина И. Д.* Иммунограмма в клинической практике. — М.: Наука, 1990.
- Лор-младший Г., Фишер Т., Адельман Д.* (ред.) Клиническая иммунология и аллергология. Пер. с англ. — М.: Практика, 2000. — 806 с.
- Луговская С. А.* Диагностика паразитозов // Клин. лаб. диагн. — 1997. — № 2. — С. 25–39.
- Лыкова Е. А.* Пневмоцистная пневмония: клинико-диагностический и терапевтический алгоритм // Инфекция и антимикробная терапия. — 2001. — Т. 3. — № 1. — С. 24–27.

- Лысенко А. Я.* Актуальные проблемы лабораторной диагностики СПИД-ассоциируемых инфекций // *Клин. лаб. диагн.* — 1995. — № 6. — С. 110–113.
- Лысенко А. Я., Красильников А. А.* Лабораторные методы диагностики паразитарных болезней. — М.: Изд-во МО РАМЛД, 1999. — 61 с.
- Ляшенко В. А.* Макрофаги в инфекционном процессе // *Иммунология.* — 1996. — № 4. — С. 48–53.
- Майер К. П.* Гепатит и последствия гепатита: Практик. рук. Пер. с нем.; Под ред. А. А. Шептулина. — М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. — 432 с.
- МакДермотт Майкл. Т.* Секреты эндокринологии. — М.: БИНОМ, 1998. — 410 с.
- МакЛаклин Д.* Идентификация и типирование криптоспоридий: молекулярно-биологические подходы // *Клинич. микробиол. и антимикробная химиотерапия.* — 2000. — Т. 2. — № 3. — С. 48–51.
- МакНелли П. Р.* Секреты гастроэнтерологии. Пер. с англ. — М.; СПб.: ЗАО БИНОМ; Невский Диалект, 1999. — 1023 с.
- Мальшико Е. Ю.* Клиническое значение смешанной криоглобулинемии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М., 1999.
- Матковский В. С., Казанцева А. П.* Инфекционные болезни. — Л., 1970. — 375 с.
- Мегро Ф.* Является ли проблемой резистентность *Helicobacter pylori* к антибиотикам? // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* — 1999. — Т. 8. — № 3. — С. 74–78.
- Медведев В. В., Волчек Ю. З.* Клиническая лабораторная диагностика: Справ. для врачей. — СПб.: Гишнократ, 1995.
- Мороз В. В.* Лабораторная диагностика токсоплазмоза — роль и место иммуноферментного анализа // *Сб. материалов семинара «Рош-Москва», Москва — Звенигород.* — М., 1994. — С. 66–68.
- Мусил Я.* Основы биохимии патологических процессов. Пер. с чеш. — М.: Медицина, 1985.
- Насонов Е. Л., Панюкова Е. В., Александрова Е. Н.* С-реактивный белок — маркер воспаления при атеросклерозе (новые данные) // *Кардиология.* — 2002. — № 7. — С. 53–62.
- Насонов Е. Л.* Современные подходы к профилактике и лечению антифосфолипидного синдрома // *Тер. арх.* — 2003. — Т. 75. — № 5. — С. 83–87.
- Насонова В. А., Бунчук Н. В.* (ред.) Ревматические болезни: Руководство для врачей. — М.: Медицина, 1997. — 520 с.
- Никулин Б. А., Шмаров Д. А., Прешин В. Н., Крехнов Б. В.* Проточно-цитофлуорометрический анализ пролиферативной активности лимфоцитов в культуре с фитогемаглютининном // *Лаб. дело.* — 1989. — № 4. — С. 34–38.

- Новик А. А., Цыган В. Н., Дулатова И. Х. и др.* Синдром хронической усталости и иммунной дисфункции. — СПб.: ВмедА, 2001. — 104 с.
- Новиков Д. К.* Справочник по клинической иммунологии и аллергологии. — Минск: Беларусь, 1987.
- Овчинников Н. М., Беднова В. Н., Делекторский В. В.* Лабораторная диагностика заболеваний, передающихся половым путем. — М.: Медицина, 1987. — 304 с.
- Ожегов А. М., Мякишева Л. С., Плахотина Н. Г.* Частота выявления инфекций, относимых к внутриутробным, в соматическом стационаре у детей Удмуртии // Педиатрия. — 2000. — № 4. — С. 61–64.
- Ориэл Дж. Д., Риджуэй Дж. Л.* Хламидиоз. Пер. с англ. — М.: Медицина, 1984.
- Павлович С. А.* Основы иммунологии: Учебное пособие. — Минск: Выш. шк., 1997. — 115 с.
- Пак С. Г., Турьянов М. Х., Пальцев М. А.* Сальмонеллез. — М.: Медицина, 1988. — 304 с.
- Парфенов А. И., Крумс Л. М., Жукова С. Г.* Клиническое значение оценки иммунологического статуса больных глютеновой энтеропатией // Рос. гастроэнтеролог. журн. — 1997. — № 2. — С. 37–41.
- Парфенов А. И.* Энтерология. — М.: Триал-Х, 2002. — 744 с.
- Пасечников В. Д., Чуков С. З., Правдина И. А.* Использование Вестерн-блот-анализа в диагностике H. pylori-ассоциированной патологии гастродуоденальной зоны // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. — 2000. — Т. 10. — № 2. — С. 63–65.
- Паттерсон Р., Грэммер Л. К., Гринберг П. А.* Аллергические болезни: диагностика и лечение. Пер. с англ.; Под ред. акад. РАМН А. Г. Чучалина (гл. ред.), чл.-кор. РАМН И. С. Гузина (отв. ред.), Э. Г. Улумбекова (отв. ред.), Р. С. Фассахова (отв. ред.). — М.: ГЭОТАР Медицина, 2000. — 768 с.
- Подымова С. Д.* Болезни печени. — М.: Медицина, 1984.
- Подымова С. Д.* Болезни печени. — М.: Медицина, 1993. — 544 с.
- Пожарисский К. М., Зуева Е. Е., Никитин А. Ю.* Особенности продукции хорионического гонадотропина клетками трофобластических опухолей // Вопр. онкол. — 1988. — Т. 34. — № 8. — С. 945–951.
- Поздеев О. К.* Медицинская микробиология / Под ред. акад. РАМН В. И. Покровского. — М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. — 768 с.
- Позняк А. Л., Лобзин Ю. В., Сидорчук С. Н. и др.* Хламидийные поражения дыхательных путей // Эпидемиология и инфекционные болезни. — 2002. — № 5. — С. 46–53.
- Покровский В. И. (ред.)* Инфекционные болезни. — М.: Медицина, 1996. — 528 с.
- Покровский В. И., Малеев В. В., Семина Г. А.* Роль лабораторных исследований в диагностике и мониторинге инфекционных болезней // Клин. лаб. диагн. — 1995. — № 6. — С. 28–33.

- Попов А. Ф., Фролова О. Е., Половинкина Л. С. и др. Характеристика экспресс-методов диагностики тропической малярии // *Лаборатория*. — 2002. — № 2. — С. 18.
- Постовит В. А. Брюшной тиф и паратифы А и В. — Л.: Медицина, 1988. — 239 с.
- Потанин М. П. Цитокиновая сеть нейтрофилов при воспалении // *Иммунология*. — 1996. — № 4. — С. 34–40.
- Прозоровский С. В., Раковская И. В., Вульфович Ю. В. Медицинская микоплазмология. — М., 1995. — 288 с.
- Пыцкий В. И., Адрианова Н. В., Артомасова А. В. Аллергические заболевания. 3-е изд., перераб. и доп. — М.: Триалв-Х. — 1999. — 470 с.
- Резник М., Новик Э. Секреты урологии. Пер. с англ. — М.: БИНОМ, 1997. — 352 с.
- Рекомендации по диагностике и лечению инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. — 1998. — Т. 8. — № 1. — С. 105–107.
- Решетняк Т. М., Дексен Р. В., Алекберова З. С. и др. Антитела к  $\beta$ -2-гликопротеину 1 при системной красной волчанке: новый лабораторный маркер антифосфолипидного синдрома // *Клин. мед.* — 1998. — № 3. — С. 36–41.
- Руднов В. А., Беляев С. В., Николаев Э. К. Оценка тяжести состояния при сепсисе и септическом шоке // *Анестез. и реаниматол.* — 1995. — № 6. — С. 9–12.
- Руднов В. А. Сепсис. Терминология, патогенез, оценка тяжести и интенсивная терапия (современные представления). Ч. 1 // *Вестн. интенсив. тер.* — 1997. — № 3. — С. 33–37.
- Руднов В. А. Сепсис. Терминология, патогенез, оценка тяжести и интенсивная терапия (современные представления). Ч. 2 // *Вестн. интенсив. тер.* — 1997. — № 4. — С. 40–46.
- Рулева Н. Ю., Домогатский С. П., Апарин И. С. и др. Роль аутоантител к  $\beta_1$ -адренорецепторам при идиопатической дилатационной кардиомиопатии у человека // *Кардиология*. 2001. — № 5. — С. 79–82.
- Рябов С. И. Нефрология: Рук. для врачей. — СПб.: СпецЛит, 2000. — 672 с.
- Семенова Е. И. Системные васкулиты. — М.: Медицина, 1988. — 238 с.
- Симакова М. Г., Смирнова В. С., Дурова А. А. Клиника, диагностика и лечение внутриутробной инфекции // *Акуш. и гинекол.* — 1995. — № 4. — С. 7–10.
- Скворцов С. В. Значение опухолеассоциированных антигенов в диагностике и прогнозировании течения рака поджелудочной железы // *Сб. материалов семинара «Рош-Москва»*, Москва — Звенигород. — М., 1994. — С. 45–53.

- Соколов Е. И., Старкова Н. Т., Шукина Г. И. и др. Метаболический синдром X как основа ишемической болезни сердца // Кардиология. — 1997. — Т. 37. — № 3. — С. 4–7.
- Соколов Е. И. (ред.) Клиническая иммунология: Руководство для врачей. — М.: Медицина, 1998. — 272 с.
- Самов Г. П., Покровский В. И., Беседнова Н. Н. Псевдотуберкулез. — М.: Медицина, 1990. — 238 с.
- Соринсон С. Н. Вирусные гепатиты. — Л.: Медицина, 1987. — 264 с.
- Соринсон С. Н. Вирусные гепатиты. — СПб.: ТЕЗА, 1998. — 325 с.
- Соринсон С. Н. Гельминтозы: Клиническая лекция. — Н. Новгород, 1993. — 26 с.
- Стрижаков А. Н., Баев О. Р. Современные подходы к диагностике и тактике ведения больных с опухолевидными заболеваниями яичников // Акуш. и гинекол. — 1995. — № 4. — С. 15–19.
- Табалин В. А., Зарубина Е. П., Жданова Л. И., Кожевникова Г. М. Внутритрунные вирусные инфекции в патологии сердца у детей раннего возраста // Клини. вестн. — 1997. — № 2. — С. 37–41.
- Тареева И. Е. (ред.) Нефрология: Рук. для врачей. — М.: Медицина. — 1995. — Т. 1. — 496 с.
- Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. — М.: Мир, 1989. — 653 с.
- Тимохов В. С., Яковлева И. И., Калащникова Е. А., Ипатьева Е. И. Содержание в плазме цитокинов (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) и их клиренс при постоянной гемофильтрации у больных с сепсисом и полиорганной недостаточностью // Анестезиол. и реаниматол. — 1997. — № 3. — С. 59–62.
- Тиц И. У. (ред.) Клиническая оценка лабораторных тестов. Пер. с англ. — М.: Медицина, 1986.
- Тиц Н. (ред.) Энциклопедия клинических лабораторных тестов. Пер. с англ. — М.: Лабинформ, 1997. — 942 с.
- Тотолян А. А., Фрейдлин И. С. Возможности иммунологической лабораторной диагностики // Клини. лаб. диагн. — 1997. — № 2. — С. 16–23.
- Федосеева В. Н., Порядин Г. В., Ковальчук Л. И. и др. Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях. — М.: Промедэк, 1993. — 320 с.
- Фитцпатрик Джеймс Е., Элинг Джон Л. Секреты дерматологии. Пер. с англ. — М.; СПб.: БИНОМ; Невский диалект, 1999. — 512 с.
- Фокс Р. А. (ред.) Инфекционные болезни и иммунитет в пожилом возрасте. Пер. с англ. — М.: Медицина, 1987. — 446 с.
- Фрейдлин И. С. Ключевая позиция макрофагов в цитокиновой регуляторной сети // Иммунология. — 1996. — № 3. — С. 44–48.
- Фримель Х., Брок Й. Основы иммунологии. Пер. с англ. — М.: Мир, 1986.
- Хазанов А. И. Функциональная диагностика болезней печени. — М.: Медицина, 1988.



- Халилова И. С., Гельфгат Е. Б. Ю., Джохаридзе Т. З., Джавидов С. А.* Сравнительное изучение основных параметров иммунного статуса и антител к инсулину у больных сахарным диабетом // Иммунология. — 1993. — № 1. — С. 46–48.
- Храйчик Д. Е., Седор Д. Р., Ганц М. Б.* Секреты нефрологии. Пер. с англ. — М.; СПб.: БИНОМ; Невский диалект, 2001. — 303 с.
- Чередеев А. Н.* Перспективы развития лабораторной иммунологической службы // Лаб. дело. — 1995. — № 6. — С. 76–78.
- Чисов И. И., Демидов В. П., Пугачев К. К. и др.* Опухолевые маркеры в диагностике и мониторинге рака молочной железы // Сб. материалов семинара «Ропш-Москва», Москва — Звенигород. — М., 1994. — С. 37–43.
- Чучалин А. Г.* (ред.) Терапия. Пер. с англ. — М.: ГЭОТАР, 1996. — 1024 с.
- Шабалин В. Н., Серова Л. Д.* Клиническая иммуногематология. — Л.: Медицина, 1988. — 311 с.
- Шевченко О. П.* Высококочувствительный анализ С-реактивного белка и его применение в кардиологии // Лаб. мед. — 2003. — № 6. — С. 35–41.
- Шейман Дж. А.* Патофизиология почки. Пер. с англ. — М.: Вост. кн. компания, 1997. — 224 с.
- Шерлок Ш., Дули Дж.* Заболевания печени и желчных путей: Практ. рук. Пер. с англ.; Под ред. З. Г. Апросиной, Н. А. Мухина. — М.: ГЭОТАР Медицина, 1999. — 864 с.
- Шилин Д. Е.* Актуальные вопросы лабораторной диагностики заболеваний щитовидной железы (современные рекомендации международных организаций) // Лаборатория. — 2002. — № 4. — С. 3–6.
- Шляпников С. А., Бубнова Н. А., Ерюхин И. А.* Принцип цитокиновой терапии сепсис-синдрома // Вестн. хир. им. И. И. Грекова. — 1997. — № 2. — С. 51–55.
- Шумаков В. И., Рулева Н. Ю., Коробов Н. В. и др.* Разработка аналитического метода на основе иммуноферментного анализа для определения аутоантител к  $\beta_1$ -адренорецепторам в сыворотке крови больных с дилатационной кардиомиопатией // Вест. трансплантол. и искусств. органов. — 1999. — № 4. — С. 34–41.
- Щербюк А. Н., Кузнецов Н. А., Лобов В. А.* Клиническое значение антифосфолипидного синдрома // Хирургия. — 2002. — № 10. — С. 70–76.
- Ягужинская О. Е., Пивник А. В., Февралева И. С. и др.* Диагностика инфекции парвовирусом В19 у гематологических больных в сочетании с парциальной красноклеточной аплазией костного мозга // Тер. арх. — 2001. — Т. 8. — № 8. — С. 50–56.
- Alarcon-Segovia D., Deleze M., Oria C. V. et al.* Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. A perspective analysis of 500 consecutive patients // Medicine. — 1987. — Vol. 68. — P. 353–365.

- Aldrich J.* Geriatric changes in laboratory results // *Clinical Laboratory Science: Strategies for Practice*. B. Davis, M. L. Bishop, D. Mass (eds.). — Philadelphia: JB Lippincott, 1989.
- Ambruster D.* Prostate-specific antigen: Biochemistry, analytical methods and clinical application // *Clin. Chem.* — 1993. — Vol. 39. — No. 2. — P. 181–195.
- Appel G. B., Neu H. C.* Antimicrobial agents in patients with renal disease // *Medical Times.* — 1977. — Vol. 105. — No. 9. — P. 116.
- Armstrong D., Cohen J.* Infectious diseases. First published. — London — Philadelphia — St. Louis — Sydney — Tokyo: Mosby, 1999. — P. 1–2.
- Arnoux D., Boutiere B., Sanmarco M.* Antiphospholipid antibodies: clinical significance and biological diagnosis // *Ann. Biol. Clin. (Paris).* — 2000. — Vol. 58. — No. 5. — P. 557–574.
- Astion M. L., Wilding P.* Application of neural networks to the interpretation of laboratory data in cancer diagnosis // *Clin. Chem.* — 1992. — Vol. 38. — P. 34–38.
- Atkins J. T., Cacerer E., Cleary T. G.* Cryptosporidiosis, Cyclospora infection, isosporiasis, and microsporidiosis // *Textbook of pediatric infectious diseases*. R. D. Feigin, J. D. Cherry (eds.). 4th ed. — Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1998. — P. 2413–2432.
- Bamford K. B., Lutton D. A., O'Loughlin B. et al.* Nested primers improve sensitivity in the detection of *Helicobacter pylori* by the polymerase chain reaction // *J. Infect.* — 1998. — Vol. 36. — No. 1. — P. 105–110.
- Banatvala J.* Laboratory diagnosis of viral hepatitis // *Clin. Exp. Obstet. Gynec.* — 1983. — Vol. 10. — P. 5–12.
- Basso D., Stefani A., Brigato L. et al.* Serum antibodies anti-H. pylori and anti-CagA: a comparison between four different assays // *J. Clin. Lab. Anal.* — 1999. — Vol. 13. — No. 4. — P. 194–198.
- Bataille R., Boccadoro M., Klein B. et al.* C-reactive protein and beta-2-microglobulin produce a simple and powerful myeloma staging system // *Blood.* — 1992. — Vol. 80. — P. 733–737.
- Beever K. et al.* Highly Sensitive Assay of Autoantibodies to Thyroglobulin and to Thyroid Peroxidase // *Clin. Chem.* — 1989. — Vol. 35. — P. 1949–1954.
- Bengetsson A.* Cascade System Activation in Shock // *Acta Anaesthes. Scand.* — 1993. — Vol. 98. — P. 7–10.
- Berec J. S., Hacker N. F.* Practical Gynecologic Oncology. — Baltimore, 1994. — 722 p.
- Bertolaccini M. L., Atsumi T., Khamashta M. A. et al.* Autoantibodies to human prothrombin and clinical manifestations in 207 patients with systemic lupus erythematosus // *J. Rheumatol.* — 1998. — Vol. 25. — No. 6. — P. 1104–1108.
- Besa E. C., Catalano P. M., Kaunt J. A., Jefferies L. C.* Hematology. — New York, 1992. — 336 p.

- Bogousslavsky J.* Frontal stroke syndromes // *Eur. Neurol.* — 1994. — Vol. 34. — No. 6. — P. 306–315.
- Bone R. C.* Sepsis syndrome. Part 1: The diagnostic challenge // *J. of Crit. Illness.* — 1991. — Vol. 6. — P. 525–539.
- Bone R. C.* Sepsis syndrome, Part 2: Coping with the therapeutic challenge // *J. of Crit. Illness.* — 1991. — Vol. 6. — P. 650–664.
- Bone R. C., Balk R. A. B., Cerra F. B. et al.* American College of Chest Physicians. Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis // *Crit. Care Med.* — 1992. — Vol. 20. — No. 6. — P. 864–874.
- Bonomo L., Dammacco F., Miglietta A.* Paroproteinemia and neoplasia // *Ric. Clin. Lab.* — 1985. — Vol. 15. — No. 2. — P. 99–104.
- Brandt J. T., Triplett D. A., Rock W. A. et al.* Effect of lupus anticoagulant on the activated partial thromboplastin time. Results of the College of American Pathologists survey program // *Arch. Pathol. Lab. Med.* — 1991. — Vol. 115. — No. 2. — P. 109–114.
- Broers J. L., Ramaekers F. C., Rot M. K. et al.* Cytoceratins in different types of human lung cancer as monitored by chain-specific monoclonal antibodies // *Cancer Res.* — 1988. — Vol. 48. — P. 3221–3229.
- Bums E. A., Goodwin J. S.* Immunology and infectious disease // *Geriatric Medicine*, 2nd ed. C. K. Cassel, D. E. Riesenber, L. B. Sorenson *et al.* (eds.). — New York: Springer-Verlag, 1990.
- Caligiuri G., Liuzzo G., Biasucci L. M. et al.* Immune system activation follows inflammation in unstable angina: pathogenetic implications // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 1998. — Vol. 32. — P. 1295–1304.
- Callea F., Fevery J., Massi G.* Alpha-1-antitrypsin and its stimulation in liver of PiMZ phenotype individual // *Liver.* — 1984. — Vol. 4. — P. 325–337.
- Christenson R. H.* Cardiac troponin T in the risk assessment of acute coronary syndromes // *Am. Clin. Lab.* — 1997. — Vol. 16. — No. 5. — P. 18–19.
- Chronic Leukemia and Myeloma Task Force of the National Cancer Institutes // *Cell Chemother. Rep.* — 1973. — Vol. 4. — P. 145–158.
- Cooper E. H., Pritchard J., Baily C. C., Ninane J.* Serum neurospecific enolase in children's cancer // *Brit. J. Cancer.* — 1987. — Vol. 56. — P. 65–67.
- Current European concepts in management of *Helicobacter pylori* infection. The Maastricht Consensus Report // *Gut.* — 1997. — Vol. 41. — P. 8–13.
- Cursen N. P., Patei D. J., Kemp M. et al.* Can C-reactive protein or troponins T and I predict outcome in patients with intractable unstable angina // *Heart.* — 1998. — No. 80. — P. 23–27.
- David S. Jacobs, Demont W. R., Finley P. R. et al.* Tilzer. Laboratory Test Handbook. — Hudson: LEXI-COMP INC, 1994.
- Davis B. G., Mass D., Bishop M. L.* Principles of clinical laboratory utilization and consultation. — Philadelphia: Saunders, 1999.

- Dawn B. Marks, Marks A. D., Smith C. M.* Basic Medical Biochemistry: A clinical approach. — Baltimore: Williams & Wilkins, 1996.
- de Werra J., Jaccard C., Corradin S. B. et al.* Cytokines, nitrite/nitrate, soluble tumor necrosis factor receptors, and procalcitonin concentrations: comparisons in patients with septic shock, cardiogenic shock, and bacterial pneumonia // *Crit. Care Med.* — 1997. — Vol. 25. — P. 607–613.
- De Werra J., Jaccard C., Corridan S. B. et al.* Cytokines, nitrate/nitrite, coludle tumor necrosis factor receptors and procalcitonin concentraterions: comparison in patients with septic shock, cardiogenic shock and bacterial pneumonia // *Crit. Care Med.* — 1997. — Vol. 25. — No. 3. — P. 607–613.
- Dier K., Fink C., Lopez L. R.* Antiphospholipid syndrome: Determination of antibodies to beta 2 glycoprotein 1 (anti-b2GPI) by ELISA // *Am. Clin. Lab.* — 1998. — Vol. 17. — No. 8. — P. 20–21.
- Durack D. T., Lukes A. S., Bright D. K.* New criteria for diagnosis of infective endocarditis Utilization of specific echocardiographic findings // *Amer. J. Med.* — 1994. — Vol. 96. — P. 200–209.
- Ehl S., Gering B., Bartmann P. et al.* C-reactive protein is a useful marker for guiding duration of antibiotic therapy in suspected neonatal bacterial infection // *Pediatrics.* — 1997. — Vol. 99. — No. 2. — P. 216–221.
- Fassbender K., Schmidt R., Schreiner A. et al.* Leakage of brain-originated proteins in peripheral blood: temporal profile and diagnostic value in early ischemic stroke // *J. Neurol. Sci.* — 1997. — Vol. 148. — No. 1. — P. 101–105.
- Ferro D., Quintarelli C., Rasura M. et al.* Lupus anticoagulant and fibrinolytic system in young patients with stroke // *Stroke.* — 1993. — Vol. 24. — No. 3. — P. 368–370.
- Fijnheer R., Roest M., Haas F. et al.* Homocysteine, MTHFR polymorfism, antiphospholipid antibodies and thromboembolic events in systemic lupus erythromathosis, a retrospective cohort study // *J. Rheumatol.* — 1998. — Vol. 25. — P. 1737–1742.
- Fisher B., Constantin J. P., Wickerham D. L. et al.* Tamoxifen for prevention of breast cancer. Repot of the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project P-1 Study // *J. Natl. Cancer Inst.* — 1998. — Vol. 90. — P. 1371–1388.
- Foerster J.* Wintrobe's Clinical Hematology, 10th ed. — 1999. — Vol. 2. — P. 2725–2737.
- Fox R. A., Horan M. A.* Genitourinary infection // *Immunology and Infection in the Elderly.* R. A. Fox (ed.). — New York: Churchill Livingstone, 1984.
- Geis W., Branch D. W.* Obstetric implications of antiphospholipid antibodies: pregnancy loss and other complications // *Clin. Obstet. Gynecol.* — 2001. — Vol. 44. — No. 1. — P. 2–10.
- Germani Y., Dauga C., Duval P. et al.* Strategy for the detection of Helicobacter species by amplification of 16S rRNA genes and identification of *H. felis* in a human gastric biopsy // *Res. Microbiol.* — 1997. — Vol. 148. — No. 4. — P. 315–326.

- Gibson J. R., Saunders N. A., Burke B., Owen R. J.* Novel method for rapid determination of clarithromycin sensitivity in *Helicobacter pylori* // *J. Clin. Microbiol.* — 1999. — Vol. 37. — No. 11. — P. 3746–3748.
- Gilboe I. M., Kvein T. K., Uhling T., Husby G.* Sicca symptoms and secondary Sjogren's syndrome in systemic lupus erythematosus: comparison with rheumatoid arthritis and correlation with disease variables // *Ann. Rheum. Dis.* — 2001. — Vol. 60. — P. 103–109.
- Go M. F., Cissell L., Graham D. Y.* Failure to confirm association of vac-A-gene mosaicism with duodenal ulcer disease // *Scand. J. Gastroenterol.* — 1998. — Vol. 33. — P. 132–137.
- Goldman L., Bennett J. C. (ed.).* Cecil textbook of medicine. 21st. ed. — W. B. Saunders company, 2000. — 2308 p.
- Gottschlich S., Billings P. B., Keithley E. M.* Assessment of serum antibodies in patients with rapidly progressive sensorineural hearing loss and Meniere's disease // *Laryngoscope.* — 1995. — Vol. 105. — P. 1347–1352.
- Greaves M.* Antiphospholipid syndrome: state of the art with emphasis on laboratory evaluation // *Haemostasis.* — 2000. — Vol. 30 (Suppl. 2). — P. 16–25.
- Gris J. C., Quere I., Sanmarco M. et al.* Antiphospholipid and antiprotein Syndromes in non-thrombotic, non autoimmune women with unexplained recurrent primary early foetal loss // *Thromb. Haemost.* — 2000. — Vol. 84. — P. 228–236.
- Gsur A. et al.* Polymorphic CAG repeats in the androgen receptor gene, prostate-specific antigen polymorphism and prostatic cancer risk // *Carcinogenesis.* — 2002. — Vol. 23. — P. 1647–1651.
- Hallgren H. M., Buckley C. E. III, Gilbertsen V. A., Yunis E. J.* Lymphocyte phytohemagglutinin responsiveness, immunoglobulins and autoantibodies in aging humans // *J. Immunol.* — 1973. — Vol. 111. — P. 1101.
- Hartmann L. C., Schaid D. J., Woods J. E. et al.* Efficacy of bilateral mastectomy in women with family history of breast cancer // *N. Engl. J. Med.* — 1999. — Vol. 340. — P. 77–84.
- Henry J. B.* Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 19th ed. — Philadelphia: Saunders, 1996.
- Hino M., Ishiko O., Honda K. I. et al.* Transmission of symptomatic parvovirus B19 infection by fibrin sealant used during surgery // *Br. J. Haematol.* — 2000. — Vol. 101. — No. 1. — P. 194–195.
- Jahns R., Boivin V., Siegmund Ch. et al.* Autoantibodies activating human  $\beta_1$ -adrenergic receptors are associated with reduced cardiac function in chronic heart failure // *Circulation.* — 1999. — No. 99. — P. 649–654.
- Jensen R.* The new markers of cardiovascular risk // *Clin. Haemost. Rev.* — 2000. — Vol. 14. — P. 1–4.
- Jonnes S. L.* Clinical laboratory pearls. — Philadelphia — Baltimore — New York — London — Buenos Aires — Hong Kong — Sydney — Tokyo: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

- Kaburaki J., Kuwana M., Yamamoto M. et al.* Clinical significance of antiannexin V antibodies in patients with systemic lupus erythematosus // *Ann. J. Hematol.* — 1997. — Vol. 534. — No. 3. — P. 209–213.
- Kayazawa M., Salton O., Kojima K. et al.* Lactoferrin in whole gut lavage fluid as marker for disease activity in inflammatory bowel disease: Comparison with other neutrophil-derived proteins // *Am. J. Gastroenterol.* — 2002. — Vol. 97. — P. 360–369.
- Kim J. S., Yoon S. S., Kim Y. H., Ryu J. S.* Serial measurement of interleukin-6, transforming growth factor-beta, and S-100 protein in patients with acute stroke // *Stroke.* — 1996. — Vol. 27. — No. 9. — P. 1553–1557.
- Kroot E. J. A., de Jong B. A. W., van Leeuwen M. A. et al.* The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent onset rheumatoid arthritis // *Arthritis Rheum.* — 2000. — Vol. 36. — P. 1831–1835.
- Kumar P., Clark M.* (ed.) *Clinical Medicine. A Textbook for medical students and doctors.* 3<sup>rd</sup> ed. — Bailliere Tindall, 1994. — 1135 p.
- Lee R. G. et al.* (eds.) *Wintrobe's clinical hematology.* 10<sup>th</sup> ed. — Williams & Wilkins. A WAVERLY COMPANY, 1998. — Vol. 1–2. — 2880 p.
- Lehmann C. A.* (eds.) *Saunders manual of clinical laboratory science.* — W. B. Saunders Company, 1998. — 1297 p.
- Leung W. K.* Evaluation of a novel recombinant antigen in the serodiagnosis of *H. pylori* infection // *Gastroenterol.* — 1999. — Vol. 116. — P. 235.
- Love P. E., Santoro S. A.* Antiphospholipid antibodies: Anticardiolipin and the lupus anticoagulant in systemic lupus erythematosus (SLE) and in non-SLE disorders // *Ann. Int. Med.* — 1990. — Vol. 112. — P. 682–698.
- Lowry S. F., Van Zee K. J., Rock C. S. et al.* Shock, Sepsis and Organ Failure: Third Wiggers Bernard Conference. Cytokine Network / Eds. G. Schlag *et al.* — Berlin, 1993. — P. 3–17.
- Lynch H. T.* Genetic susceptibility to non-polyposis colorectal cancer // *J. Med. Genet.* — 1999. — Vol. 36. — P. 801–818.
- Magnusson Y., Wallukat G., Waagstein F. et al.* Autoimmunity in idiopathic dilated cardiomyopathy. Characterization of antibodies against the  $\beta_1$ -adrenoreceptor with positive chronotropic effect // *Circulation.* — 1994. — Vol. 89. — P. 2760–2767.
- Mahon C. R., Manuvelis G.* (eds.) *Textbook of diagnostic microbiology.* 2nd ed. — WB Saunders Company, 2000.
- Makristathis A., Pasching E., Schetze K. et al.* Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by PCR and antigen enzyme immunoassay // *J. Clin. Microbiol.* — 1998. — Vol. 36. — No. 9. — P. 2772–2774.
- Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C. et al.* Current European concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection — the Maastricht consensus report // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* — 1997. — Vol. 9. Pt. 1 — P. 2.

- Malik A. H., Lee W. M. Chronic hepatitis B virus infection: treatment strategies for the next millennium // *Ann. Intern. Med.* — 2000. — Vol. 132. — P. 723–731.
- Manns M. P., Strassburg C. P. Autoimmune Hepatitis: Clinical Challenge // *Gastroenterol.* — 2001. — Vol. 120. — P. 1502–1517.
- Mariotti S. et al. Antithyroid peroxidase antibodies in thyroid disease // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* — 1990. — Vol. 71. — P. 661–669.
- Marshburn P. B., Kutteh W. H. The role of antisperm antibodies in infertility // *Fertil. Steril.* — 1994. — Vol. 61. — No. 5. — P. 799–811.
- Matsuura E., Igarashi Y., Yasuda T. et al. Heterogeneity anticardiolipin antibodies defined by the anticardiolipin cofactor // *J. Immunol.* — 1992. — Vol. 148. — P. 3885–3891.
- McCarty D. J., Koopman W. J. Arthritis and allied condition. Textbook of rheumatology: In 2 vol. — Philadelphia, 1993.
- Megraud F. How should *Helicobacter pylori* infection be diagnosed? // *Gastroenterology.* — 1997. — Vol. 113 (Suppl.). — P. 593–598.
- Meier W., Eiermann W., Stieber P. et al. Experiences with SCC antigen, a new tumor marker for cervical carcinoma // *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* — 1989. — Vol. 25. — No. 11. — P. 1555–1559.
- Meinertz H., Hjort T. Anti-Sperm Antibodies in the Male. In: *Immunocontraception. Ares-Serono Symposia Publications.* O. Nilsson, R. Mattsson (eds.). — Rome, 1995. — P. 83–89.
- Miettinen A., Heinonen P., Teisala K. et al. Serologic evidence for the role *Chlamidia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Mycoplasma hominis* in the etiology of tubal factor infertility and ectopic pregnancy // *Sex Transm. Dis.* — 1990. — No. 17. — P. 10–14.
- More W. T., Eastman R. C. (ed.) *Diagnostic endocrinology.* 2<sup>nd</sup> ed. St. Louis — Baltimore — Carlsbad — Chicago — Naples — New York — Philadelphia — Portland — London — Madrid — Mexico City Singapore — Sydney — Tokyo — Toronto — Wiesbaden: Mosby, 1996. — 523 p.
- Morrow D. A., Rifal N., Antman E. M. C-reactive protein is a potent predictor of mortality independently of and in combination with troponin T in acute coronary syndromes: a TIMI IIA substudy // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 1998. — Vol. 31. — P. 1460–1465.
- Moyer L. A., Mast E. E. Hepatitis B: virology, epidemiology, disease, and prevention, and an overview of viral hepatitis // *Am. J. Prev. Med.* — 1994. — Vol. 10 (Suppl.). — P. 45–55.
- Munker R., Hiller E., Paquette R. *Modern hematology: biology and clinical management.* — Totowa, New Jersey: Humana Press, 2000. — 369 p.
- Murray Patrick R., Baron Ellen J., Pfaller Michael A., Tenover Fred C., Tenover Robert H. *Manual of Clinical Microbiology.* — Washington: ASM PRESS, 1995. — 1482 p.

- Murray Patrick R., Baron Ellen J., Pfaller Michael A., Tenover Fred C., Tenover Robert H. Manual of Clinical Microbiology. — Washington: ASM PRESS, 2003.
- Nicoll D., McPhee S. J., Chou T. M., Demer W. M. Pocket guide to diagnostic tests. 2nd ed. — Stamford: Appleton & Lange, 1997. — 457 p.
- Oksanen K., Kainulainen H., Ruuska T. et al. Reverse transcription-polymerase chain reaction in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Finnish children // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* — 1999. — Vol. 28. — No. 3. — P. 252–256.
- Peason T. A., Mensah G. A., Wayne A. R. et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease. Application to clinical and public health practice. A statement for disease control and American Heart Association // *Circulation.* — 2003. — Vol. 107. — P. 499–511.
- Perez-Perez G. I., Cutler A. F., Blaser M. J. Value of serology as noninvasive method for evaluating the efficacy of treatment of *Helicobacter pylori* infection // *Clin. Infect. Dis.* — 1997. — Vol. 25. — P. 1038–1043.
- Plehanl M., Guariso G., Fogar P. et al. Effect of *cagA* status on the sensitivity of enzyme immunoassay in diagnosing *Helicobacter pylori*-infected children // *Helicobacter.* — 1999. — Vol. 4. — No. 4. — P. 226–232.
- Porro G. B. (ed.-in-chief) Gastroenterology and Hepatology — London: McGraw-Hill International (UK), 1999.
- Poynard T., Bedossa P., Opolon P. Natural history of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. The OBSVIRC, METAVIR, and DOSVIRC groups // *Lancet.* — 1997. — Vol. 349. — P. 825–832.
- Prieto J., Rodes J., Shafritz D. A. (eds.) Hepatobiliary diseases. — Springer-Verlag, 1992. — 1128 p.
- Rader D. J. Inflammatory markers of coronary risk // *N. Engl. J. Med.* — 2000. — Vol. 343. — P. 1179–1182.
- Rebusy A. G., Quaranta G., Llusó G. et al. Incremental prognostic value of serum levels of troponin T and C-reactive protein on admission in patients with unstable angina pectoris // *Am. J. Cardiol.* — 1998. — Vol. 82. — P. 715–719.
- Reutelingsperger C. P. M., van Heerde W. L. Annexin V, the regulator of phosphatidylserine-catalyzed inflammation and coagulation during apoptosis // *Cell Mol. Life Sci.* — 1997. — Vol. 53. — P. 527–532.
- Reynolds J. V., Murchan P., Leonard N. et al. High-dose interleukin-2 promotes bacterial translocation from the gut // *Brit. J. Cancer.* — 1995. — Vol. 72. — No. 3. — P. 634–636.
- Rich R. R., Fleisher T. A., Kotzin B. L., Schoeder H. W. Clinical immunology. Principles and practice. 2nd edition. — London — Edinburgh — New York — Philadelphia — St. Louis — Sydney — Toronto: Mosby, 2001. — P. 1–2.



- Ridker P. M.* High-sensitive C-reactive protein. Potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease // *Circulation*. — 2001. — Vol. 103. — P. 1813–1818.
- Robertson J., Hogston P., Ward M.* Gonococcal and chlamydial antibodies in ectopic and intrauterine pregnancy // *Brit. J. Obstet Gynaecol.* — 1988. — No. 95. — P. 711–716.
- Rose N. R., Macario E. C., Folds J. D. et al.* (ed.). *Manual of clinical laboratory immunology*. 5th ed. — Washington, D. C.: ASM PRESS, 1997. — 1255 p.
- Ross S.* Atherosclerosis — an inflammatory disease // *N. Engl. J. Med.* — 1999. — Vol. 104. — P. 115–126.
- Roubey R. A. S., Maldonado M. A., Byrd S. N.* Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to beta2-glycoprotein and conventional anticardiolipin immunoassay // *Ibid.* — 1996. — P. 1606–1607.
- Roxin L. E., Cullhed I., Groth T. et al.* The value in serum myoglobin determinations in the early diagnosis of acute myocardial infarction // *Acta Med. Scand.* — 1984. — Vol. 215. — No. 5. — P. 417–425.
- Rudi J., Rudy A., Maiwald M. et al.* Direct determination of *Helicobacter pylori* vacA genotypes and cagA gene in gastric biopsies and relationship to gastrointestinal diseases // *Am. J. Gastroenterol.* — 1999. — Vol. 94. — No. 6. — P. 1525–1531.
- Quinton J. F., Sendin B., Reumaux D. et al.* Anti-Saccharomyces cerevisiae mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role // *Gut*. — 1998. — Vol. 42. — P. 788–791.
- Sackett D., Haynes B., Guyatt G., Tugwell P.* *Clinical epidemiology: A basic science for clinical medicine*. — Boston: Little Brown, 1991.
- Schaechter M., Medoff G., Eisenstein B. I.* *Mechanisms of microbial disease*. 2nd ed. — Baltimore: Williams & Wilkins, 1993. — 973 p.
- Schaid D. J. et al.* Evidence for autosomal dominant inheritance of prostate cancer // *Am. J. Hum. Genet.* — 1998. — Vol. 62. — P. 1425–1438.
- Schellekens G. A., de Jong B. A. W., van den Hoogen F. H. J. et al.* Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies // *J. Clin. Invest.* — 1998. — Vol. 101. — P. 273–281.
- Schellekens G. A., Visser H., de Jong B. A. W. et al.* The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide // *Arthr. Rheum.* — 2000. — Vol. 43 (1). — P. 155–163.
- Shapiro E. D., Berg A. T., Austrian R. et al.* The protective efficacy of polyvalent pneumococcal polysaccharide vaccine // *N. Engl. J. Med.* — 1991. — Vol. 325. — P. 1453.

- Sillis M.* The limitation of IgM assays in the serological diagnosis of *Mycoplasma pneumoniae* infections // *Med. Microbiol.* — 1990. — Vol. 33. — P. 255–258.
- Silveria L. H., Lopez L. R., Uzzle R. T. et al.* IgA, IgG and IgM anticardiolipin antibodies in black patients with systemic lupus erythematosus // *Arthr. Rheum.* 56<sup>th</sup> Annual Meeting. — 1992. — P. 125.
- Stiene-Martin E. A., Lotspeich-Steininger, Kopke J. A.* *Clinical Hematology: Principles, procedures, correlations.* 2nd ed. — Philadelphia: Lippincott, 1998.
- Szewczuk M. R., Campbell R. J.* Loss of immune competence with age may be due to auto-anti-idiotypic antibody regulation // *Nature.* — 1980. — Vol. 286. — P. 164.
- Tavtigian S. V. et al.* A candidate prostate cancer susceptibility gene at chromosome 17p // *Nature genetics.* — 2001. — Vol. 27. — P. 172–180.
- Taylor M. B.* (ed.) *Gastrointestinal emergencies.* 2nd ed. — Baltimore: Williams & Wilkins, 1997.
- Tsutsumi A., Matsuura E., Ichikawa K. et al.* Antibodies to beta2-glycoprotein I and clinical manifestations in patients with systemic lupus erythematosus // *Arthr. Rheum.* — 1996. — Vol. 39. — P. 1466–1474.
- Vaarala O., Puurunen M., Manttari M. et al.* Antibodies to prothrombin imply a risk of myocardial infarction in middle-aged men // *Thromb. Haemost.* — 1996. — Vol. 75. — No. 3. — P. 456–459.
- Van der Wouden E. J., Thijs J. C., van Zwet A. A. et al.* Reliability of biopsy-based diagnostic tests for *Helicobacter pylori* after treatment aimed at its eradication // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* — 1999. — Vol. 11. — No. 11. — P. 1255–1258.
- Vicerforst T., Brodin G., Grandien M. et al.* Detection of specific IgM antibodies for the diagnostics of *Mycoplasma pneumoniae* infections: a clinical evaluation // *Scand. J. Infect. Dis.* — 1988. — Vol. 20. — No. 6. — P. 601–610.
- Vihko P., Konturi M., Lukkarinen O., Vihko R.* Immunoreactive prostatic acid phosphatase in prostatic cancer: diagnosis and following of patients // *Urology.* — 1985. — Vol. 133. — P. 979–982.
- Von Landenberg P., von Landenberg C., Scholmerch J., Lackner K. J.* Antiphospholipid syndrome. Pathogenesis, molecular basis and clinical aspects // *Med. Clin.* — 2001. — Vol. 96. — No. 6. — P. 331–342.
- Wallach J. M. D.* *Interpretation of Diagnostic Tests.* 6th ed. — Boston: Little, Brown & Co., 1996.
- Watanabe T., Tomita S., Kudo M. et al.* Detection of *Helicobacter pylori* gene by means of immunomagnetic separation-based polymerase chain reaction in feces // *Scand. J. Gastroenterol.* — 1998. — Vol. 33. — No. 11. — P. 1140–1143.
- Wildfuhr G.* *Medizinische Mikrobiologie, Immunologie, und Epidemiologie.* Bd. 3. — Leipzig: Thieme, 1978. — 625 s.

- Wilson W. A., Gharavi A. E., Koike T. et al.* International consensus statement on preliminary classification criteria for definite antiphospholipid syndrome // *Am. Col. Rheum.* — 1999. — Vol. 42. — No. 7. — P. 1309–1311.
- Yasumoto K., Horiuchi T., Kagami S. et al.* Mutation of Dnase 1 in people with systemic lupus erythematosus // *Nature Genetics.* — 2001. — Vol. 28. — P. 313–314.
- Zhang J., Xu M.* Apoptotic DNA fragmentation and tissue homeostasis // *Cell. Biolog.* — 2002. — Vol. 12. — P. 84–89.
- Zuger A., Louie E., Holzman R. S. et al.* Cryptococcal disease in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Diagnostic features and outcome of treatment // *Ann. Int. Med.* — 1986. — Vol. 104. — P. 234–240.

## Указатель тестов

### А

- Агломерация лейкоцитов 74
- Альфа-фетопrotein (АФП) 242
- Анализ клеточного цикла клеток костного мозга по содержанию ДНК 131
- Аннексин V 175
- Антиген
  - вируса гепатита А 310, 313
  - вируса гепатита D 326
  - гонококковый 435
  - муциноподобный (МСА) 247
  - плоскоклеточной карциномы (SCC) 254
  - поверхностный гепатита В (HBsAg) 315
  - простатический специфический (ПСА), общий и свободный 254, 258
  - р24 309
  - раковый 15-3 251
  - раковый 72-4 250
  - раковый 125 248
  - рака мочевого пузыря (ВТА) 263
  - углеводный 19-9 245
  - *Candida albicans* 460
  - *Chlamidia pneumonia* 416, 418
  - *Chlamidia trachomatis* 415, 420, 491
  - *Cryptococcus neoformans* 464
  - *Cryptosporidae* 446
  - HBsAg гепатита В 314, 315, 319
  - HER-2/neu 261
  - HRP-2 (*P. falciparum*) 448
  - *Histoplasma capsulata* 465
  - *Mycoplasma hominis* 427, 432, 490

- *Mycoplasma pneumoniae* 427, 428, 490
- *Neisseria meningitidis* 387
- *Pneumocystis carinii* 463
- *Ureaplasma urealyticum* 434
- Антиглобулиновый тест (проба Кумбса)
  - прямой 238
  - не прямой 239
- Антинуклеарный фактор (АНА) 136
- Антистрептолизин-О (АСЛО) 157
- Антитела
  - антимитохондриальные 200
  - антикардиолипидные 168
  - антицентрометрические 145
  - антиэндоциальные 229
  - к аденовирусам 362
  - к  $\beta_1$ -адренорецепторам 214
  - к аминоксилсинтетазе ТРНК 146
  - к аннексину V 175
  - к антигену hsp-70 233
  - к антигену p24 IgM и IgG 310
  - к антигенам островковых клеток поджелудочной железы 191
  - к асиалогликопротеиновому рецептору 203
  - к базальной мембране клубочков 223
  - к белкам вируса гепатита С — иммуноблоттинг 324
  - к белкам *Helicobacter pylori* — иммуноблоттинг 414
  - к белку, усиливающему бактерицидное действие нейтрофилов 211
  - к боррелиям 405
  - к вирусу гепатита А IgM 312
  - к вирусу гепатита С 323
  - к вирусу гепатита D IgM 326
  - к вирусу гепатита D IgG 326
  - к вирусу гриппа А и В 360
  - к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ 1/2) 308
  - к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ 1/2) — иммуноблоттинг 309
  - к вирусам Коксаки 364
  - к вирусу парагриппа 1, 2, 3, 4 361

- к вирусу простого герпеса типа 1 и 2 337
- к вирусу Т-клеточного лейкоза 355
- к вирусу Эпштейна—Барр 341
- к внутреннему фактору 227
- к возбудителю аспергиллеза 456
- к возбудителю бруцеллеза 388
- к возбудителю гистоплазмоза 465
- к возбудителю иерсиниоза 402
- к возбудителю криптококкоза 464
- к возбудителю лептоспироза 408
- к возбудителю описторхоза 454
- к возбудителю псевдотуберкулеза 404
- к возбудителю трихинеллеза 452
- к возбудителю туберкулеза 395
- к возбудителю туляремии 407
- к галактоцереброзиду 221
- к ганглиозидам 219
- к гемофильной палочке 386
- к гиалуронидазе 159
- к гистонам 146
- к гладкой мускулатуре 201
- к глиадину 228
- к  $\beta$ -2-гликопротеину 1 170
- к двуспиральной ДНК 141
- к дифтерийному токсину 396
- к дезоксирибонуклеазе В 158
- к декарбоксилазе глутаминовой кислоты 193
- к инсулину 192
- к катепсину G 212
- к кератину 154
- к компоненту ганглиозидов GQ<sub>1b</sub> 220
- к лактоферрину 212
- к лизоциму 212
- к легионеллам 400
- к лямблиям 445
- к миелопероксидазе нейтрофилов 211
- к микросомальному антигену печени и почек 202
- к микросомальной фракции щитовидной железы 184

- к менингококку 387
- к надпочечникам 194
- к нуклеарным антигенам (антинуклеарный фактор) 136
- к односпиральной ДНК 142
- к основному белку миелина 218
- к паратиреоидным клеткам 182
- к париетальным клеткам 227
- к парвовирусу В19 366
- к печеночно-специфическому липопротеину 201
- к пневмококку 386
- к прозрачной оболочке ооциста 195
- к протеинкиназе-3 нейтрофилов 211
- к протромбину 174
- к растворимым печеночным антигенам (SLA) 204
- к респираторно-синцитиальному вирусу 363
- к ретикулину 229
- к рецептору ацетилхолина 216
- к сальмонеллам 392
- к сперматозоидам 195
- к стрептококкам 383
- к стафилококкам 385
- к сульфатидам 220
- к тиреоглобулину 185
- к тиреоидпероксидазе 186
- к тканевой трансглутаминазе 230
- к ТТГ-рецепторам 187
- к тубулярной базальной мембране 225
- к фосфатидилсерину 178
- к  $\alpha$ -фодрину 149
- к циклическому цитруллиновому пептиду 152
- к цитозольному антигену печени (LC-1) 207
- к цитоплазме нейтрофилов 207
- к эндотелию 212
- к экстрагированным ядерным антигенам 143
- к эхинококку 449
- к ядерному антигену гепатита В (анти-НВсAg) 318
- к ядерному антигену гепатита В IgM (анти-НВсAg IgM) 318
- к ядерному антигену гепатита В IgG (анти-НВсAg IgG) 319

- к  $\beta$ -субъединице алкогольдегидрогеназы 205
- к *Bordetella pertussis* 398
- к *Candida albicans* 459
- IgM к вирусу ветряной оспы 339
- IgM и IgG к вирусу краснухи 358
- IgM и IgG к вирусу кори 353
- IgM к вирусу паротита 354
- IgM и IgG к токсоплазме 440
- IgM и IgG к цитомегаловирусу 348
- IgA, IgM, IgG к *Chlamidia pneumonia* 419, 420
- IgA, IgM, IgG к *Chlamidia trachomatis* 424
- к *Entamoeba histolytica* 436
- к *Helicobacter pylori* 412
- к HBcAg гепатита В (анти-HBcAg) 320
- к HBsAg (анти-HBsAg) гепатита В 317
- к *Mycoplasma pneumoniae* 428
- к RNP/Sm 143
- к *Saccharomyces cerevisiae* 230
- к Sm 143, 144
- к SS-A(Ro) 144, 147
- к SS-B(La) 143, 144, 147
- к *Toxocara canis* 451
- к *zona pellucida* 195
- овариальные 195
- эндомизальные 229

## Б

### Белок

- Бенс—Джонса в моче 51, 52
- Бенс—Джонса общий в сыворотке 50
- основной белок миелина 215

### Белки прионовые 368

### Бета-2-микроглобулин ( $\beta_2$ -МГ) 265

### Бета-хорионический гонадотропин ( $\beta$ -ХГ) 252

## В

### Вирус гепатита А 310

### Вирус гепатита В 314, 476



- Вирус гепатита С 322, 471  
 Вирус иммунодефицита человека 295, 478  
 Вирусы медленных инфекций 367  
 Вирус папилломы человека 480  
 Вирус хронической усталости 369  
 Волчаночный антикоагулянт 171

**Д**

- Дезоксирибонуклеаза 1 148

**И**

- Иммуноглобулин А (IgA) 31  
 Иммуноглобулин Е (IgE) 37  
 Иммуноглобулин G (IgG) 34  
 Иммуноглобулин М (IgM) 33  
 Иммуноферментный метод диагностики сифилиса 290  
 Иммуноэлектрофорез белков  
 – мочи 52  
 – сыворотки 42  
 Интерлейкин 2 (IL-2) 90  
 Интерлейкин 6 (IL-6) 91  
 Интерлейкин 8 (IL-8) 92

**К**

- Карбогидратный антиген СА 19-9 245  
 Карбогидратный антиген СА 72-4 250  
 Клетки красной волчанки (LE-клетки) 135  
 Комплекс гистосовместимости главный (HLA) 111  
 Криоглобулины 53

**Л**

- Лактоферрин 232  
 ЛАЛ-тест 380  
 Лизосомально-катионный тест (ЛКТ) 79  
 Лизоцим 81  
 Лимфоциты  
 – общее количество 56  
 – В-лимфоциты (CD-20) 56

- В-лимфоциты активированные (CD-23) 59
- В-лимфоциты, несущие IgA 59
- В-лимфоциты, несущие IgM 60
- В-лимфоциты, несущие IgG 62
- натуральные киллеры (CD16) 68
- Т-лимфоциты (CD3) 63
- Т-лимфоциты с рецепторами к IL-2 (CD25) 69
- Т-супрессоры (CD8) 67
- Т-хелперы (CD4) 65
- Естественные киллеры (CD56) 70

#### М

- Микобактерии туберкулеза 395
- Микоплазмоз 427
- Метод
  - иммуноферментного анализа 273
  - полимеразной цепной реакции 469
  - HLA-типирования 111
- Муциноподобный ассоциированный антиген (MCA) 247

#### Н

- Нейронспецифическая енолаза (NSE) 259
- Неоптерин 94

#### О

- Окислительный метаболизм гранулоцитов (ОМГ-тест) 80
- Опухолевый антиген мочевого пузыря (ВТА) 263

#### П

- Пируваткиназа М2-типа 266
- Плазмодии малярии в крови 447
- Полимеразная цепная реакция (ПЦР) 469
- Проба Кумбса
  - прямая 238
  - непрямая 239
- Простатический специфический антиген (ПСА)
  - общий 254
  - свободный 258

**Р**

- Раковый антиген СА 15-3 251  
Раковый антиген СА 125 248  
Раково-эмбриональный антиген (РЭА) 244  
Реакция Вассермана 286  
Реакция микропреципитации с кардиолипидным антигеном на сифилис 283  
Реакция торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) 71  
Ревматоидный фактор (РФ) 150  
Рецепторы  
– к инсулину 190  
– тиреоидных гормонов 187

**С**

- Синдром приобретенного иммунодефицита (СПИД) 305  
Стимулированная реакция бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ) с митогенами (ФГА, Кона) 73  
Спонтанная реакция бластной трансформации лимфоцитов 72  
С-реактивный белок (СРБ) 159  
С3-компонент комплемента 85  
С4-компонент комплемента 86

**Т**

- Типирование HLA 111  
Титр комплементарной активности 84  
Тест с НСТ  
– активированный 79  
– спонтанный 77  
– с лизатом амебоцитов сухопутного краба *Limulus Polyphemus* (ЛАЛ-тест) 380

**Ф**

- Фагоцитоз 75  
Фагоцитарная активность нейтрофилов 76  
Фактор  
– колониестимулирующий (КСФ) 93  
– некроза опухолей (TNF- $\alpha$ ) 88  
– ревматоидный 150

Фибронектин 93

$\alpha$ -фодрин 149

Фрагмент цитокератина-19 (CYFRA-21-1) 260

X

Хеликобактерии 410, 483

Хламидии 415, 491

$\beta$ -Хорионический гонадотропин ( $\beta$ -ХГ) 252

Ц

Цитокины 86

Цитокератина-19 фрагмент (CYFRA-21-1) 260

Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) 41

Цитомегаловирус (ЦМВ) 346, 480