

РОЛЬ МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ РАСШИФРОВКЕ ПОРАЖЕНИЙ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

В.И. Шахгильдян¹, Э.А. Домонова¹, М.С. Ядрихинская², А.А.

Орловский³, О.А. Тишкевич⁴, Е.Б. Яровая³

¹Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора

²Московский городской Центр по профилактике и борьбе со СПИДом

³Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

⁴Клиническая инфекционная больница № 2 Департамента здравоохранения г. Москвы
г. Москва, Российская Федерация

Резюме. *Введение.* Проблема тяжелых поражений ЦНС у больных ВИЧ-инфекцией актуальна. *Цель исследования.* Описание спектра поражений ЦНС, определение диагностического значения наличия и различных концентраций РНК ВИЧ и ДНК возбудителей вторичных заболеваний в СМЖ и крови для верификации природы энцефалита у больных ВИЧ-инфекцией. *Материалы и методы.* Обследованы 5485 больных ВИЧ-инфекцией, 1310 с поражением ЦНС. Исследованы образцы СМЖ (1667), сыворотки крови (743) и плазмы крови (3623) с определением ДНК патогенов и РНК ВИЧ. Применяли пакеты статистических программ Statistica v. 10.0 и SPSS v. 20, язык программирования R, таблицы сопряженности с критерием χ^2 Пирсона, ROC-анализ. *Результаты.* Показаны спектр вторичных неврологических патологий у больных ВИЧ-инфекцией, частота выявления и количественные характеристики РНК ВИЧ, ДНК возбудителей нейроинфекций в СМЖ. Связь между количеством РНК ВИЧ в крови и СМЖ статистически значима, но в 7,5% случаев концентрация РНК ВИЧ в СМЖ превышала >10 раз показатель в плазме. Вследствие высокой диагностической чувствительности теста отсутствие ДНК возбудителей вторичных заболеваний и РНК ВИЧ СМЖ исключает их роль в развитии энцефалита. Диагностическая специфичность качественного определения ДНК *T. gondii*, *M. tuberculosis*, *C. neoformans*, *JCPyV* равна 100%. Необходимо количественное определение РНК ВИЧ, ДНК ЦМВ, ДНК ВЭБ, ДНК ВГЧ-6 А/В типа, грибов рода *Candida* в СМЖ для подтверждения этиологии поражения ЦНС. Определение ДНК ЦМВ в СМЖ в концентрации >16 600 копий/мл, лейкоцитах крови >4,65 lg копий/10⁵ клеток, плазме крови >62 700 копий/мл с 95% вероятностью подтверждает ЦМВ-этиологию энцефалита. *Заключение.* Качественное и количественное определение ДНК возбудителей вторичных заболеваний и РНК ВИЧ в СМЖ имеет решающее значение в своевременной расшифровке природы неврологической патологии у больных ВИЧ-инфекцией.

Ключевые слова: РНК ВИЧ, ДНК ЦМВ, ДНК *T. gondii*, ДНК *M. tuberculosis*, СМЖ

ROLE OF MOLECULAR BIOLOGICAL METHODS IN ETIOLOGICAL DECODING OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM LESIONS IN PATIENTS WITH HIV INFECTION

V.I. Shakhgildyan¹, E.A. Domonova¹, M.S. Yandrihynskaya²,

A.A. Orlovsky³, O.A. Tishkevich⁴, E.B. Yarovaya³

¹Central Research Institute of Epidemiology, Russian Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare,

²Moscow City Centre for AIDS Prevention and Treatment

³Lomonosov Moscow State University

⁴Clinical Infection Hospital №2
Moscow, Russian Federation

Summary. Introduction. The problem of severe CNS lesions in patients with HIV infection is relevant. **Objective of the study.** Description of the spectrum of CNS lesions, determination of the diagnostic value of the presence and different concentrations of HIV RNA and DNA agents of secondary diseases in CSF and blood to verify the nature of encephalitis in patients with HIV infection. **Materials and methods.** 5485 patients with HIV infection were examined, 1310 with CNS damage. CSF (1667), blood serum (743) and blood plasma (3623) samples with the determination of pathogens DNA and HIV RNA were examined. Statistical software packages Statistica v. 10.0 and SPSS v. 20, programming language R, conjugacy tables with Pearson χ^2 criterion, ROC analysis were used. **Results.** The spectrum of secondary neurological pathologies in patients with HIV infection, the frequency of detection and quantitative characteristics of HIV RNA, DNA of pathogens of neuroinfections in CSF are shown. The association between the amount of HIV RNA in the blood and CSF is statistically significant, but in 7.5% of cases, the concentration of HIV RNA in the CSF exceeded > 10 times the plasma value. Due to the high diagnostic sensitivity of the test, the absence of DNA of secondary disease pathogens and HIV RNA CSF excludes their role in the development of encephalitis. The diagnostic specificity of qualitative DNA determination of *T. gondii*, *M. tuberculosis*, *C. neoformans*, *JCPyV* is 100%. It is necessary to quantify HIV RNA, CMV DNA, EBV DNA, HHV-6 A/B DNA, *Candida* fungi in the CSF to confirm the etiology of the CNS lesion. Determination of CMV DNA in CSF at a concentration of > 16,600 copies/mL, blood leukocytes > 4.65 lg copies/ 10^5 cells, blood plasma > 62,700 copies/mL with 95% probability confirms CMV-etiology of encephalitis. **Conclusion.** Qualitative and quantitative determination of DNA of secondary disease agents and HIV RNA in CSF is crucial in timely decoding of the nature of neurological pathology in patients with HIV infection.

Keywords: HIV RNA, CMV DNA, *T. gondii* DNA, *M. tuberculosis* DNA, CSF

Введение. На сегодняшний день проблема тяжелых поражений центральной нервной системы (ЦНС), обусловленных, как вторичной патологией, так и воздействием самого ВИЧ, у больных ВИЧ-инфекцией сохраняет свою актуальность [1,2,3]. Среди госпитализированных в 2017 г. в ИКБ №2 ДЗМ 7781 больных ВИЧ-инфекцией (27,1% от общего числа стационарных пациентов за год) около половины находились на стадии СПИДа, которая в 35% была обусловлена поражением ЦНС различной этиологии [4]. Более чем у половины умерших больных ВИЧ-инфекцией летальный исход связан со вторичными заболеваниями, нередко протекающими с неврологической патологией центрального генеза [5].

Поражение ЦНС при ВИЧ-инфекции является наиболее сложным для этиологической расшифровки [4,5,6]. У 225 (68%) из 331 больного отделения интенсивной терапии ИКБ № 2 ДЗМ с данной патологией ее причина прижизненно осталась неустановленной [2]. Летальность у пациентов с энцефалитом неясной этиологии составила 81%. В 14% случаях природа поражения головного мозга не была определена даже посмертно [2].

Нередко у больных с неврологической или психоневрологической симптоматикой диагнозы формулируются как «СПИД-деменция», «энцефалопатия на фоне основного заболевания», «энцефалит неясной этиологии», «полиорганная недостаточность», не давая представления о природе патологического процесса, этиологическом спектре неврологических поражений и, соответственно, о первоочередности внедрения диагностических процедур и лекарственного обеспечения госпитализированных больных ВИЧ-инфекцией с поражением ЦНС [6,7].

В настоящее время в клинической практике все шире используют молекулярно-биологические методы – определение ДНК и РНК возбудителей инфекционных болезней в различных биологических материалах [8,9]. Вместе с тем, клиническое значение, показатели диагностических чувствительности и специфичности качественного и количественного определения ДНК возбудителей вторичных заболеваний и РНК ВИЧ в спинномозговой жидкости (СМЖ) и крови у больных ВИЧ-инфекцией с поражением ЦНС остаются не охарактеризованы, что существенно

затрудняет использование ПЦР-тестов в клинической работе. Следовательно, определение спектра нейроинфекций и роли молекулярных методов в расшифровке причин неврологической патологии у ВИЧ-инфицированных пациентов является актуальной научной и практической задачей.

Цель исследования: описание спектра поражений ЦНС, установление частоты выявления и количественных характеристик ДНК возбудителей нейроинфекций и РНК ВИЧ в СМЖ, определение диагностических чувствительности и специфичности наличия и различных концентраций ДНК патогенов (в частности, ДНК ЦМВ) в СМЖ, лейкоцитах крови и плазме крови для верификации природы энцефалита у больных ВИЧ-инфекцией.

Материалы и методы. Проведено клиническое наблюдение 5485 больных ВИЧ-инфекцией, находившихся на лечении в ИКБ № 2 ДЗМ. Медиана (Ме) возраста пациентов составила 33 года (19 – 72 года). Мужчин было 3998 (72,9%), женщин – 1487 (27,1%). Стадия СПИДа (4Б (СПИД) – 4В (СПИД) или С-3) была поставлена 3333 пациентам (60,8%). Антиретровирусную терапию (АРТ) до поступления в стационар получали лишь 17% пациентов. Умерли 593 (10,8%) чел.

Для диагностики вторичных заболеваний, протекающих с поражением ЦНС, помимо стандартных лабораторных и инструментальных исследований, проводили МРТ головного мозга с контрастированием, диагностическую люмбальную пункцию. Образцы СМЖ и других биологических материалов исследовали методами микроскопии, люминесцентной микроскопии, микробиологическим, молекулярно-биологическим методами на наличие возбудителей вторичных заболеваний с количественной оценкой их содержания. Для качественного или количественного определения нуклеиновых кислот (НК) возбудителей вторичных заболеваний, протекающих с поражением ЦНС, и ВИЧ в образцах СМЖ (n=1667) использовали ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ. Экстракцию НК проводили с помощью комплекта реагентов «РИБО-преп» (РУ № ФСР 2008/03147, ФБУН ЦНИИ

Эпидемиологии Роспотребнадзора, РФ). Исследовали 743 образцов сыворотки крови и 3623 образцов плазмы крови с количественным определением ДНК ЦМВ. Постановку ПЦР-РВ, ОТ-ПЦР-РВ осуществляли с использованием наборов реагентов производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (РФ) на приборе с системой детекции флуоресцентного сигнала в режиме «реального времени» «Rotor-Gene Q» (ФСЗ 2010/07595, «Qiagen GmbH», Германия) в соответствии с инструкцией производителя.

Для статистической обработки полученных результатов применены пакеты статистических программ Statistica v. 10.0 и SPSS v. 20. Проверку исследуемых признаков на нормальность проводили с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. При отсутствии нормальной распределенности признака для представления данных использовали медиану и интерквартильный размах (25-й, 75-й процентиля). Для выявления статистически значимых различий в распределениях признака в двух независимых группах использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. При изучении распределений признаков в нескольких независимых группах использовали критерий Краскела–Уоллиса с последующим применением критерия Данна для множественных сравнений. Исследование взаимосвязей проведено с помощью анализа таблиц сопряженности с применением критерия χ^2 Пирсона. Поиск ассоциаций концентрации ДНК ЦМВ в биоматериалах и наличия ЦМВ-энцефалита проводили с применением ROC-анализа. Для каждого из биоматериалов были найдены отрезные точки концентраций ДНК ЦМВ, для которых значения чувствительности и специфичности совпадали. Проанализировано изменение чувствительности и специфичности в зависимости от концентрации ДНК ЦМВ в биоматериале, что позволило выявить ряд дополнительных клинически значимых отрезных точек. Уровень значимости для проверяемых статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты. Концентрация РНК ВИЧ в плазме крови была от 0 до 22 794 770 копий/мл. Ме и интерквартильный размах составили 143 203 [14 643 – 608 946] копий/мл. В 55,7% стационарных пациентов имели критически высокую ВН>100 000 копий РНК ВИЧ в 1 мл плазмы, из них у 26,6% показатель превышал 1 000 000 копий/мл. Концентрация РНК ВИЧ СМЖ колебалась от 0 до 5 501 576 копий/мл. Ме и интерквартильный размах составили 10 108 [735 – 63 864] копий/мл. РНК ВИЧ в СМЖ отсутствовала в 13,4% случаев (13 пациентов), составляла от 20 до 999 копий/мл в 22,7% (22), 1000–10 000 копий/мл – 20,6% (20), 10 001 – 100 000 копий/мл – 24,7% (24), 100 001–1 000 000 копий/мл – 15,5% (15), > 1 000 000 копий/мл – 3,1% (3). Пациенты с наличием в СМЖ РНК ВИЧ в концентрации > 100 000 копий/мл имели нейрокогнитивные расстройства, ассоциированные с ВИЧ или ВИЧ-энцефалит.

Случаев обнаружения РНК ВИЧ в СМЖ при отсутствии вируса в крови не зафиксировано. При наличии и увеличении концентрации РНК ВИЧ в плазме возрастала частота определения и количество вируса в СМЖ. Так, при количестве РНК ВИЧ в крови < 1000 копий/мл (n = 9 больных) РНК вируса в ликворе присутствовала в 66,7% случаев и у большинства в минимальной концентрации; при вирусной нагрузке 1000 – 10 000 копий/мл (n = 10) вирус выявляли в СМЖ в 80% случаев, причем у 25% – в количестве от 10 000 до 100 000 копий/мл; при содержании РНК ВИЧ в крови > 100 000 копий/мл (n = 10) РНК вируса в СМЖ была

у всех больных и в 30% случаев – в количестве > 100 000 копий/мл. Вирусная нагрузка в плазме была выше чем в СМЖ у 75,3% (n=70) больных, показатели оказались равными в 17,2% (n=16) случаев, но у 7,5% (n=7) пациентов количество РНК ВИЧ в СМЖ превышало в 10 и более раз концентрацию РНК ВИЧ в плазме. У одного больного на фоне АРТ длительностью менее 3 мес., при концентрации РНК ВИЧ в плазме 164 копии/мл количество вируса в СМЖ составило 14 038 копий/мл, у 2 больных с лечением более 6 мес. при минимальной концентрации РНК ВИЧ в крови (20 и 45 копий/мл) количество РНК ВИЧ было 492 и 865 копий/мл соответственно.

Поражение ЦНС было диагностировано у 1310 госпитализированных больных ВИЧ-инфекцией (23,8% от общего числа больных, 39,3% от числа пациентов на стадии СПИДа). Из них умерли 372 человека: 28,4% из числа больных с поражением ЦНС, 62,7% среди всех умерших лиц с ВИЧ-инфекцией. Согласно данным, представленным на рисунке 1, в структуре заболеваний, протекавших с неврологической симптоматикой, церебральный токсоплазмоз занимал лидирующую позицию, будучи диагностированным в 275 случаев (12,1% из числа больных с поражением ЦНС, 8,3% из числа больных на стадии СПИДа), что предполагает незамедлительное начало терапии бисептолом в соответствующей лечебной дозе при наличии клинических признаков патологии ЦНС, тем более очагового характера поражения головного мозга по данным МРТ.

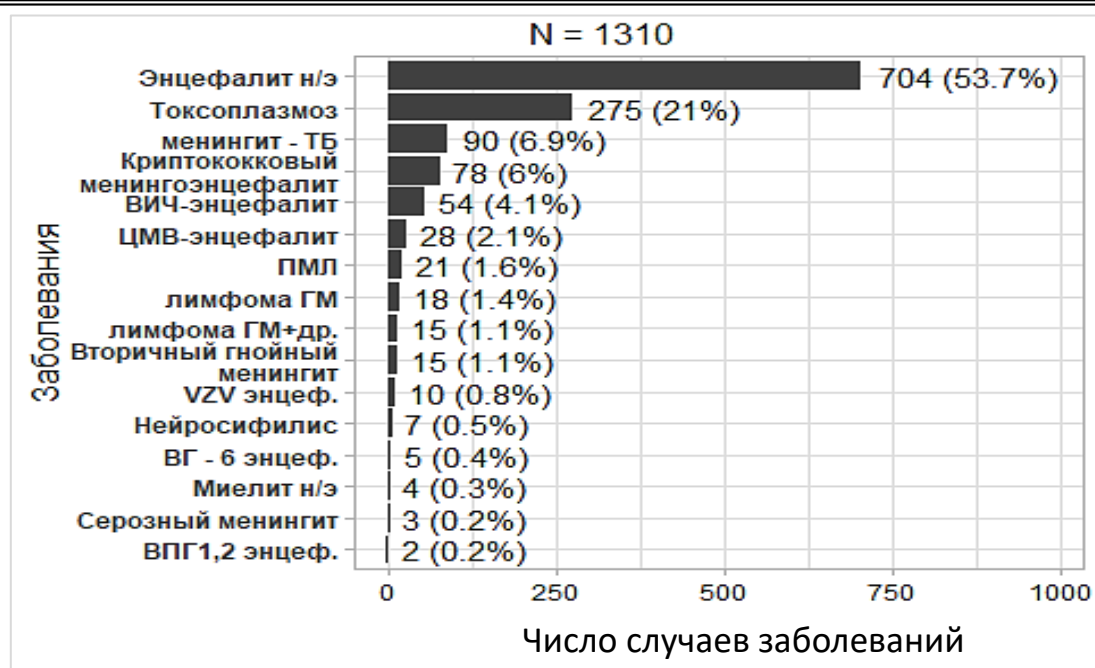


Рис. 1. Спектр и частота заболеваний, протекающих с поражением ЦНС среди больных ВИЧ-инфекцией с неврологической патологией.

Иные заболевания, протекавшие с образованием очагов в головном мозге, встречались с существенно меньшей частотой: лимфома ЦНС – 33 случая (2,5% среди поражений ЦНС и 1% среди больных на стадии СПИДа), энцефалит ВВЗ-этиологии – 10 (0,8% и 0,3%), герпетический энцефалит – 2 случая (0,2% и 0,1%, соответственно). Наличие у больного ВИЧ-инфекцией выраженных нейрокогнитивных нарушений было обусловлено ВИЧ-энцефалитом – 54 случая (4,1% и 1,6%), ЦМВ-энцефалитом – 28 (2,1% и 0,8%) или ПМЛ, вызванной JC-вирусом (*JCPyV*) (21 случай (2% и 0,6%, соответственно)). Клиническая картина воспаления мозговых оболочек была связана с развитием туберкулезного менингита у 90 больных (6,9% и 2,7%), криптококкового менингита или менингоэнцефалита – у 78 (6% и 2,3%), реже – кандидозного менингита – у 15 (1,1% и 0,5%) или вторичного гнойного менингита – у 15 (1,1% и 0,5%). Следует помнить о более редких инфекциях ЦНС, таких как нейросифилис (7 случаев (0,5% и 0,2%)) или энцефалит ВГЧ-6А/В этиологии (5 случаев (0,4% и 0,2%)). С сожалением отметим, что у 704 (53,7% среди общего количества поражений ЦНС) пациентов природа поражения головного мозга не была

установлена, что могло быть связано с крайне тяжелым состоянием больного, быстрым наступлением летального исхода, непроведением МРТ головного мозга и исследования СМЖ на наличие ДНК возбудителей нейроинфекций или РНК ВИЧ, а также, в случае наступления летального исхода, с отсутствием патологоанатомического исследования и анализа аутопсийного материала на наличие и количество ДНК патогенов «классических» и «неклассических» (ВЭБ, ВГЧ-6А/В, ВГЧ-7) нейроинфекций, РНК ВИЧ.

Частота выявления в СМЖ ДНК различных возбудителей инфекций, протекающих с поражением ЦНС, была следующей: ВЭБ – 26,7% случаев, *T. gondii* – 11,7%, ЦМВ – 8,7%, *C. neoformans* – 4,6%, JC-вируса (*Human polyomavirus 2*, *JCPyV*) – 3,7%, ДНК *M. tuberculosis* – 3%, вируса ВППГ-1,2 – 2,4%, ВГЧ-6А/В – 1,5%, ВВЗ – 1,2%, *C. albicans* – 1,9%, *C. glabrata* – 1,4%, *C. krusei* – 1,0%. РНК ВИЧ выявлена в СМЖ в 86,6% случаев.

Частота специфического поражения ЦНС в случаях обнаружения или отсутствия ДНК того или иного возбудителя, РНК ВИЧ в СМЖ у больных ВИЧ-инфекцией показана в таблице 1.

Таблица 1 – Частота специфического поражения ЦНС в случаях обнаружения или отсутствия ДНК возбудителей нейроинфекций, РНК ВИЧ в СМЖ больных ВИЧ-инфекцией

Аналит	Наличие в СМЖ	Поражение ЦНС данной этиологии				Всего	P
		Нет		Есть			
		абс.	%	абс.	%		
ДНК ЦМВ	отсутствует	1519	99,8	3	0,2	1522	< 0,001
	обнаружена	120	84,8	25	17,2	145	
ДНК ВЭБ	отсутствует	1228	99,8	2	0,2	1230	< 0,001
	обнаружена	366	97,6	9	2,4	375	
ДНК ВГЧ-6 А/В	отсутствует	1593	99,9	1	0,1	1594	< 0,001
	обнаружена	12	75	5	25	16	
РНК ВИЧ	отсутствует	13	100	0	0	13	0,016
	обнаружена	66	78,6	18	21,4	84	
ДНК <i>C. albicans</i>	отсутствует	1574	99,3	11	0,7	1585	< 0,001
	обнаружена	21	87,5	4	12,5	24	
ДНК <i>C. glabrata</i>	отсутствует	1585	99,3	12	0,7	1597	0,04
	обнаружена	11	85	2	15	13	
ДНК <i>C. krusei</i>	отсутствует	1587	99,2	13	0,8	1600	0,056
	обнаружена	7	87,5	1	12,5	8	
ДНК <i>C. neoformans</i>	отсутствует	1540	99,3	10	0,7	1550	< 0,001
	обнаружена	0	0	59	100	59	
ДНК <i>M. tuberculosis</i>	отсутствует	1534	98,1	29	1,9	1563	< 0,001
	обнаружена	0	0	48	100	48	
ДНК <i>T. Gondii</i>	отсутствует	1358	95,4	65	4,6	1423	< 0,001
	обнаружена	0	0	188	100	188	
ДНК JCPyV	отсутствует	388	100	0	0	388	< 0,001
	обнаружена	0	0	15	100	15	
ДНК ВВЗ	отсутствует	1590	100	0	0	1590	< 0,001
	обнаружена	10	50	10	50	20	

В связи с очень высокой чувствительностью теста отсутствие в СМЖ ДНК ЦМВ, ВЭБ, ВГЧ-6А/В, грибов рода *Candida*, JCPyV, ВВЗ, РНК ВИЧ исключало наличие поражения ЦНС указанной этиологии с вероятностью 99,2–100%, ДНК *M. tuberculosis* – 98,1% и ДНК *T. gondii* – 95,4% (табл. 1).

Диагностическая специфичность присутствия в СМЖ ДНК ВЭБ составила

лишь 2,4%, *C. albicans* – 12,5%, *C. krusei* – 12,5%, *C. albicans* – 15%, ЦМВ – 17,2%, ВГЧ-6 А/В – 25%, РНК ВИЧ – 21,4%. В связи с этим важно было оценить диагностическое значение различных концентраций возбудителей в СМЖ и крови. Количественные характеристики ДНК возбудителей вторичных инфекций и РНК ВИЧ в СМЖ представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Количественные показатели наличия ДНК возбудителей оппортунистических заболеваний и РНК ВИЧ в СМЖ

Аналит	N	Me, копий/мл	Min, копий/мл	Max, копий/мл	Нижняя квартиль, копий/мл	Верхняя квартиль, копий/мл
ДНК ЭБВ	375	700	11	1 636 500	200	2200
ДНК ЦМВ	145	400	47	4 373 385	200	1400
РНК ВИЧ	84	10 108	20	5 501 576	735	63 864
ДНК <i>C. neoformans</i>	59	22 300	89	10 259 500	1000	217 400
ДНК <i>C. albicans</i>	24	12	2	20 000 000	3	106
ДНК ВГЧ-6А/В	16	900	100	480 000	200	9850
ДНК <i>C. glabrata</i>	13	5	2	1 132 992	3	50
ДНК <i>C. krusei</i>	8	4	2	60	3,5	4

Концентрации ДНК возбудителей герпесвирусных инфекций, грибов рода *Candida*, РНК ВИЧ были в широких пределах, от единичных до более чем миллиона копий в мл СМЖ. В связи с чем следовало с помощью соответствующих статистических методов, прежде всего ROC-анализа, определить ту концентрацию ДНК каждого из возбудителей, которая будет характеризоваться максимальной диагностической специфичностью и, соответственно, подтверждать этиологическую роль патогена в имеющейся неврологической патологии.

На сегодняшний день получены результаты по оценке клинического значения различных концентраций ДНК ЦМВ в СМЖ и крови при подозрении на ЦМВ-этиологию энцефалита у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Манифестная цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) имела место у 448 (13,4%) больных на стадии СПИДа. ЦМВ-энцефалит (28 случаев) был причиной тяжелой неврологической патологии у 2,1% из 1310 больных с поражением ЦНС, у 4,8% из 584 пациентов с установленной этиологией поражения ЦНС, и у 6,3% лиц с клинически выраженной ЦМВИ.

Из 743 исследуемых образцов крови ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови была обнаружена у 393 (52,8%) больных. ЦМВ-энцефалит имел место лишь у 5 (1,3%) пациентов с наличием ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови и ни у одного из 738 (0%) больных при отсутствии вируса. Содержание ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови составило от 0,5 до 5,6 lg копий/10⁵ клеток (Ме 1,8; интерквартильный размах [1,2 - 2,5] lg копий/10⁵ клеток).

Из 3623 образцов плазмы крови ДНК ЦМВ обнаружена у 623 (7,2%) больных.

ЦМВ-энцефалит диагностирован у 18 (2,9%) из 623 пациентов с наличием ДНК ЦМВ в плазме крови и у 3 (0,2%) больных при отсутствии вируса в указанном виде биологического материала (1522 образцов). Концентрация ДНК ЦМВ в плазме находилась в пределах от 100 до 10 000 000 копий/мл (Ме 910; интерквартильный размах [165 - 4350] копий/мл).

Частота выявления ДНК ЦМВ в СМЖ, показатели диагностических чувствительности и специфичности качественного определения ДНК ЦМВ в ликворе, количественные показатели наличия ДНК ЦМВ в СМЖ (Ме, интерквартильный размах представлены выше (табл. 1 и 2).

Низкая диагностическая специфичность качественного определения ДНК ЦМВ в СМЖ и крови свидетельствовала о необходимости оценки количественного определения ДНК вируса в биоматериалах для верификации диагноза ЦМВ-энцефалита и обоснования назначения специфической противовирусной терапии. Наличие ЦМВ-энцефалита характеризовалось более высокой концентрацией ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови и плазме крови (критерий Манна-Уитни, $p < 0,0001$). Согласно выбранным группам, из 1667 пациентов ДНК вируса в СМЖ отсутствовала у 1522 (91,3%) больных; была выявлена в концентрации < 1000 копий/мл у 100 (6%) пациентов, $1001 - 10\,000$ копий/мл – у 27 (1,6%), $10\,001 - 100\,000$ копий/мл – 13 (0,8%), $> 100\,000$ копий/мл – у 5 (0,3%) больных. Наличие ЦМВ-энцефалита у больного характеризовалось более высокой концентрацией ДНК ЦМВ в плазме крови (критерий Манна-Уитни; $p < 0,0001$) (табл. 3).

Таблица 3 – Частота ЦМВ-энцефалита у больных ВИЧ-инфекцией с поражением ЦНС в зависимости от концентрации ДНК ЦМВ в СМЖ

Концентрация ДНК ЦМВ в СМЖ, копий/мл	ЦМВ-энцефалита нет		ЦМВ-энцефалит есть		Всего по строке
	абс.	%	абс.	%	
0	1519	99,8	3	0,2	1522
< 1000	96	96	4	4	100
1001–10 000	25	92,6	2	7,4	27
10 001–100 000	2	15,4	11	84,6	23
> 100 000	0	0	5	100	5
Всего	1642		25		1667

Проведенный ROC-анализ позволил установить отрезные значения концентраций ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови, плазме крови, СМЖ, имеющие максимально высокие диагностические чувствительность и специфичность у больных с ЦМВ-поражением головного мозга (табл. 4).

Для отрезного значения количества ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови, равного 4,95 lg копий/10⁵ клеток, специфичность составила 99,2% при чувствительности 20%, для значения 4,65 lg копий/10⁵ клеток – 98,5 и 40% соответственно. Для низкой отрезной точки количества ДНК ЦМВ, равной 1,85 lg копий/10⁵

клеток, чувствительность составила 100% при специфичности 55,7% (табл. 4).

Для значения концентрации ДНК ЦМВ в плазме крови, равного 352 170 копий/мл, специфичность составила 99%, чувствительность – 5,6%; для значения концентрации ДНК ЦМВ, равного 62 700 копий/мл, специфичность составила 95,9%, чувствительность – 16,7%. Отрезная точка концентрации ДНК ЦМВ в плазме, равная 520 копий/мл, имела 100% чувствительность при специфичности 42,6%, равная 1250 копий/мл – 94,4 и 56,5%, соответственно (табл. 4).

Таблица 4 – Клиническое значение (чувствительность и специфичность) различных отрезных точек концентраций ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови, плазме крови и СМЖ для диагностики ЦМВ-энцефалита, определенных при анализе соответствующих ROC-кривых

Биоматериал	Отрезная точка				
	точка 100% чувствительности	точка 90% чувствительности	точка баланса	точка 95% специфичности	точка 99% специфичности
ДНК ЦМВ в цельной крови (лейкоцитах крови) (n = 393):					
	1,85	1,85	2,05	4,65	4,95
чувствительность, %	100 [100–100]	100 [100–100]	60 [20–100]	40 [0–80]	20 [0–60]
специфичность, %	55,7 [50,8–60,6]	55,7 [50,8–60,6]	62,9 [58,0–67,5]	98,2 [96,6–99,5]	99,2 [98,2–100]
ДНК ЦМВ в плазме (n = 623):					
	520	1250	3160	62 700	352 170
чувствительность, %	100 [100–100]	94,4 [83,3–100]	72,2 [50,0–94,4]	16,7 [0–33,3]	5,6 [0–16,7]
специфичность, %	42,6 [38,8–46,6]	56,5 [52,9–60,3]	77 [68,6–75,7]	95,9 [94–97,4]	99,5 [99–100]
ДНК ЦМВ в СМЖ (n = 99):					
	70	150	1250	16 600	28 500
чувствительность, %	100 [100–100]	93,8 [81,2–100]	75 [50–93,8]	75 [50–93,8]	50 [25–75]
специфичность, %	1,2 [0–3,6]	9,6 [3,6–16,9]	75,9 [66,3–85,5]	98,8 [96,4–100]	100 [100–100]

Примечание: В квадратных скобках 95% ДИ.

Для отрезного значения концентрации ДНК ЦМВ в образцах СМЖ, равного 28 500 копий/мл, специфичность составила 100% при чувствительности 50%, для значения, равного 16 600 копий/мл – 98,8 и 75%, соответственно. Для низкой отрезной точки, равной 70 копий/мл, чувствительность составила 100% при специфичности 1,2%, для значения 150 копий/мл – 93,8 и 9,6%, соответственно.

Обсуждение.

Представленные результаты исследования демонстрируют высокую долю госпитализированных больных ВИЧ-инфекцией, находящихся на поздних стадиях болезни, часто имеющих крайне высокие показатели вирусной нагрузки, глубокую иммуносупрессию и, как следствие, целый спектр тяжелых вторичных заболеваний, нередко протекающих с патологией ЦНС, расшифровка которой

требует применения самых современных лабораторных и инструментальных диагностических методов, а также длительной дорогостоящей этиотропной терапии.

Показана корреляционная связь между частотой выявления и концентрацией РНК ВИЧ в крови и СМЖ. Продemonстрирован ряд случаев крайне высокой концентрации РНК вируса в ликворе при отсутствии АРТ и более высокой вирусной нагрузки в СМЖ по сравнению с плазмой (в том числе у больных, получающих АРТ), что является весомым аргументом для исследования СМЖ на количественное определение РНК ВИЧ при наличии нейрокогнитивных нарушений. Повидимому, концентрация РНК ВИЧ в СМЖ, превышающая 100 000 копий/мл, является диагностически значимой и служит основанием для постановки диагноза ВИЧ-ассоциированных нейрокогнитивных расстройств или ВИЧ-энцефалита.

Патология ЦНС в форме энцефалита, менингоэнцефалита или менингита имела место у около 40% больных на стадии СПИДа, почти у двух третей среди умерших пациентов. Ведущей причиной неврологической патологии центрального генеза у больных ВИЧ-инфекцией остается церебральный токсоплазмоз, наиболее частая причина менингита – туберкулез, реже – криптококковая инфекция. В случае развития нейрокогнитивных расстройств прежде всего следует думать о ЦМВ-энцефаловентрикулите, ВИЧ-энцефалите и ПМЛ. Увеличивается частота лимфом головного мозга. Клинически не охарактеризованы поражения головного мозга, вызванные ВЭБ (помимо первичной лимфомы ЦНС), ВГЧ-6. Остается значительной доля энцефалитов неясной этиологии среди больных с поражением ЦНС.

Согласно представленным результатам и учитывая очень высокую чувствительность молекулярно-биологических методов [8], отсутствие в СМЖ ДНК возбудителей нейроинфекций и РНК ВИЧ, а также ДНК ЦМВ в плазме крови и лейкоцитах крови в абсолютном большинстве случаев исключает их этиологическую роль в имеющейся неврологической патологии.

Учитывая 100% диагностическую специфичность наличия в СМЖ ДНК *T. gondii*, ДНК *M. tuberculosis*, ДНК *Cr. neoformans*, ДНК JCPyV, их выявление в ликворе подтверждает соответствующую этиологию энцефалита/менингоэнцефалита, менингита у больных ВИЧ-инфекцией и является основанием для начала этиотропной терапии.

Учитывая низкую диагностическую специфичность присутствия ДНК ЦМВ, ДНК ВЭБ, ДНК ВГЧ-6, РНК ВИЧ в СМЖ и крови, грибов рода *Candida* в СМЖ, факт их выявления не является достаточным для подтверждения этиологической роли данных патогенов в поражении головного мозга и диктует необходимость количественного определения ДНК перечисленных возбудителей с целью подтверждения причины патологии ЦНС и обоснования назначения специфической терапии.

Установлен широкий диапазон концентраций указанных возбудителей в СМЖ, а также ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови и плазме крови у больных ВИЧ-инфекцией. Безусловным диагностическим значением обладает определенная концентрация ДНК вируса в биологических средах пациента. В результате применения ROC-анализа были получены отрезные точки по концентрации ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови, плазме крови, СМЖ, позволяющие с высокой долей достоверности подтвердить или исключить наличие ЦМВ-энцефалита у больного ВИЧ-инфекцией. Выявление ДНК ЦМВ в СМЖ в концентрации, равной или превышающей 16 600 копий/мл, в лейкоцитах крови – 4,65 lg копий/10⁵ клеток, плазме крови – 62 700 копий/мл, с 95% вероятностью подтверждает цитомегаловирусную природу поражения головного мозга, служит основанием для постановки диагноза ЦМВ-энцефалита и проведения курса этиотропной терапии. Отсутствие ДНК ЦМВ или выявление ДНК вируса в лейкоцитах крови в концентрации <1,85 lg копий/10⁵ клеток, плазме крови <1250 копий/мл, СМЖ <150 копий/мл с 90% вероятностью исключает наличие ЦМВ-энцефалита и требует продолжения диагностического поиска для установления природы патологии ЦНС.

Заключение. Своевременная расшифровка этиологии поражения головного мозга у больных ВИЧ-инфекцией, позволяющая в короткие сроки начать этиотропную терапию, по-прежнему, является актуальной проблемой, решение которой во многих случаях сохраняет человеку жизнь и предотвращает наступление тяжелой инвалидности. Использование молекулярно-биологических методов имеет решающее значение в своевременной расшифровке природы неврологической патологии. При ряде инфекций (туберкулезе, церебральном токсоплазмозе, криптококковой инфекции, многоочаговой прогрессирующей лейкоэнцефлопатии) достаточно самого факта обнаружения ДНК возбудителя для верификации этиологии поражения ЦНС, при других инфекционных болезнях (ЦМВ-энцефалите, первичной лимфоме головного

мозга, грибковом менингите, ВГЧ-6-энцефалите и ВИЧ-энцефалите) необходимо использовать количественные методы диагностики. На примере количественных определений РНК ВИЧ в СМЖ, ДНК ЦМВ в СМЖ, лейкоцитах крови и плазме крови было показано, что только определенная концентрация возбудителя в биоматериале свидетельствует о природе поражения головного мозга.

Дальнейшее понимание клинического значения количественного содержания в СМЖ ДНК других возбудителей вторичных заболеваний, протекающих с поражением ЦНС (ВЭБ, ВГЧ-6А/В, JC-вируса, грибов рода *Candida*, *C. neoformans*), внесет существенный вклад в построение диагностических алгоритмов при патологии нервной системы центрального генеза не только при ВИЧ-инфекции, но и у больных с неврологической патологией в целом.

Литература

1. Покровский В.В., ред. ВИЧ-инфекция и СПИД: национальное руководство. Краткое издание. 2-е изд., перераб. и доп. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2021. 512 с. [Pokrovsky VV, ed. HIV infection and AIDS: national guidelines. 2nd ed., reprint. and add. Moscow: GEOTAR-Media; 2021. 512 p. (In Russ.)].
2. Вознесенский С.Л., Шахгильдян В.И., Петрова Е.В., Кожевникова Г.М., Ермак Т.Н., Тишкевич О.А. и др. Энцефалиты неясной этиологии у больных ВИЧ-инфекцией: клиническая и патологоанатомическая расшифровка. *Терапевтический архив* 2021;93(11):1278–82. [Voznesenskiy SL, Shakhgildyan VI, Petrova EV, Kozhevnikova GM, Ermak TN, Tishkevich OA et al. Unspecified Encephalitis in HIV-Infected Patients: Clinical and Post Mortem Evaluation. *Therapeutic archive*. 2021; 93(11): 1278–82. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.2644/00403660.2021.11.201197>
3. Masliah E, DeTeresa RM, Mallory ME, Hansen LA. Changes in pathological findings at autopsy in AIDS cases for the last 15 years. *AIDS*. 2000;14:69–74.
4. Перегудова А.Б., Ермак Т.Н., Шахгильдян В.И., Шипулина О.Ю., Гончаров Д.Б. Церебральный токсоплазмоз в структуре поражения центральной нервной системы у больных ВИЧ-инфекцией. *Эпидемиол. инфекц. болезни. Актуал. вопр.* 2013;(1):26–30. [Peregudova AB, Ermak TN, Shakhgildyan VI, Shipulina OY, Goncharov DB. Cerebral toxoplasmosis in the structure of central nervous system lesions in patients with HIV infection. *Epidemiology and infectious diseases. Current items*. 2013;(1):26–30. (In Russ.)].
5. Jellinger K, Setinek U, Drlicek M. Neuropathology and general autopsy findings in AIDS during the last 15 years. *Acta Neuropathol*. 2000;100:213–20. <https://doi.org/10.1007/s004010000245>
6. Кравченко А.В., Ладная Н.Н., Козырина Н.В., Покровский В.В., Юрин О.Г., Соколова Е.В. и др. Причины летальных исходов среди лиц, инфицированных ВИЧ, в Российской Федерации в 2008–2018 гг. *Эпидемиол. инфекц. болезни. Актуал. вопр.* 2020;10(3):63–9. [Kravchenko AV, Ladnaia NN, Kozyrina NV, Pokrovsky VV, Yurin OG, Sokolova EV et al. Causes of deaths among people infected with HIV in the Russian Federation in 2008–2018. *Epidemiology and infectious diseases. Current items*. 2020;10(3):63–9. (In Russ.)]. <https://dx.doi.org/10.18565/epidem.2020.10.3.63-9>
7. Шахгильдян В.И., Соколова Е.А., Юрин О.Г., Ладная Н.Н., Канестри В.Г. Определение случая СПИДа и причины летальных исходов у больных ВИЧ-инфекцией. *Эпидемиол. инфекц. болезни. Актуал. вопр.* 2020;10(3):70–8. [Shakhgildyan VI, Sokolova EA, Yurin OG, Ladnaia NN, Kanestri VG. Case definition of

- AIDS and causes of death in patients with HIV infection. *Epidemiology and infectious diseases. Current items*. 2020;10(3):70–8. (In Russ.)). <https://dx.doi.org/10.18565/epidem.2020.10.3.70-8>
8. Акимкин В.Г., Творогова М.Г., ред. Лабораторная диагностика инфекционных болезней. М.; 2020. 480 с. [Akimkin VG, Tvorogova MG, eds. *Laboratory diagnosis of infectious diseases*. Moscow; 2020. 480 p. (In Russ.)].
9. Шахгильдян В.И., Ядрихинская М.С., Орловский А.А., Шипулина О.Ю., Домонова Э.А., Тишкевич О.А. и др. Концентрация ДНК ЦМВ в биологических материалах – ключ к диагностике цитомегаловирусной пневмонии у больных ВИЧ-инфекцией. *Журнал инфектологии*. 2019;11(3, прил. 1):109–17. [Shakhgildyan VI, Yandrikhinskaya MS, Orlovsky AA, Shipulina OY, Domonova EA, Tishkevich OA et al. Quantity of CMV DNA in biological samples – a key to CMV pneumonia diagnosis in HIV patients. *Journal Infectology*. 2019; 11(3, Suppl. 1):109–17. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.22625/2072-6732-2019-11-3S1>

Для цитирования

Шахгильдян В.И., Домонова Э.А., Ядрихинская М.С., Орловский А.А., Тишкевич О.А., Яровая Е.Б. Роль молекулярно-биологических методов в этиологической расшифровке поражений центральной нервной системы у больных ВИЧ-инфекцией. *Вестник КГМА им. И.К. Ахунбаева*. 2023;4:41-51. https://doi.org/10.54890/1694-6405_2023_4_41

Сведения об авторах

Шахгильдян Василий Иосифович – к.м.н., старший научный сотрудник Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, Россия. E-mail: vishakh@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8686-0487>.

Домонова Эльвира Алексеевна – к.б.н., руководитель научной группы разработки новых методов диагностики оппортунистических и папилломавирусных инфекций, отдел молекулярной диагностики и эпидемиологии, Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, Россия. E-mail: elvira.domonova@pcr.ms, <http://orcid.org/0000-0001-8262-3938>

Ядрихинская Марина Сергеевна – врач-ординатор, Московский городской центр по профилактике и борьбе со СПИДом Департамента здравоохранения города Москвы, г. Москва, Россия. E-mail: rusalo4ka_88@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-9649-8522>

Орловский Алексей Александрович – лаборант-исследователь лаборатории мониторинга программ по снижению смертности от сердечно-сосудистых заболеваний, НМИЦ кардиологии Минздрава России, г. Москва, Россия. E-mail: leha-ork@yandex.by, <http://orcid.org/0000-0002-0794-4683>

Тишкевич Олег Александрович – врач-патологоанатом, Инфекционная клиническая больница № 2 Департамента здравоохранения города Москвы, г. Москва, Россия. E-mail: tishol@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0789-7709>

Яровая Елена Борисовна – д.ф.-м.н, профессор кафедры теории вероятностей, механико-математический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва, Россия. E-mail: yarovaya@mech.math.msu.su, <http://orcid.org/0000-0002-6615-43157129>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.
Conflict of interest. The authors declare that there are no possible conflicts of interest.