

1. Лопаткин Н.А. *Урология*. 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2013.
2. Каприн А.Д., Гафанов Р.А., Миленин К.Н. Пилонефрит. Клиника, диагностика и лечение. *Лечащий врач*. 2011; 2: 5—11.
3. Огулов А.Т., Хазова О.А., Хазов О.Э. *Ранняя диагностика и профилактика почечных нарушений*. М.: Предтеча; 2009.
4. Давыдов А.В. *Комплексное лечение и реабилитация больных хроническим пиелонефритом и нефролитиазом с использованием питьевых минеральных вод*: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Барнаул; 2009.
5. Петрушкина Н.П. *Фитотерапия и фитопрофилактика внутренних болезней*. Челябинск: УралГУФК; 2010.

1. Lopatkin N.A. *Urology* [Urologiya]. 2nd ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2013. (in Russian)
2. Kaprin A.D., Gafanov R.A., Milenin K.N. Pyelonephritis: clinic, diagnosis and treatment. *Lechashchiy vrach*. 2011; 2: 5—11. (in Russian)
3. Ogulov A.T., Khazova O.A., Khazov O.E. *Early diagnosis and prevention of kidney disorders* [Rannaya diagnostika i profilaktika pochechnykh narusheniy]. Moscow: Predtecha; 2009. (in Russian)
4. Davydov A.V. *Comprehensive treatment and rehabilitation of patients with chronic pyelonephritis and nephrolithiasis using drinking mineral waters*. Dis. Barnaul; 2009. (in Russian)
5. Petrushkina N.P. *Phytotherapy and phyto prophylaxis of internal diseases* [Fitoterapiya i fitoprofilaktika vnutrennikh bolezney]. Chelyabinsk: UralGUFK; 2010. (in Russian)

Поступила 17.06.14

Received 17.06.14

Лекции

© МОРОЗОВА О.В., 2014

УДК 616.831-002-022:578.833,26]-07-08

Морозова О.В.

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРОФИЛАКТИКИ, ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

ФГБУ "НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского" Минздрава России, 123098, Москва, Россия

Для корреспонденции: Морозова Ольга Владимировна, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии. E-mail: omorozova2010@gmail.com

Correspondence to: Olga Morozova, leading researcher, Laboratory of Immunology.

E-mail: omorozova2010@gmail.com

♦ Циркуляция вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) в составе стабильной паразитарной системы, включающей вирус, ixodovых клещей-переносчиков и позвоночных многих видов, исключает возможность полной элиминации вируса при изменениях численности отдельных видов резервуарных хозяев. Для профилактики клещевого энцефалита (КЭ) применяют инактивированные вакцины, разработанные 40—77 лет назад с вакцинными штаммами дальневосточного и европейского генетических типов, несмотря на доминирование сибирского типа ВКЭ в большинстве эндемичных областей России. Новые подходы к созданию вакцин включают применение современных штаммов 3 основных генетических типов ВКЭ с использованием культур клеток, а не фибробластов куриных эмбрионов; ДНК- и РНК-иммунизацию, множественные антигенные пептиды, изменение адьювантов и добавление цитокинов. Диагностика КЭ основана на детекции антител в иммуноферментном анализе (ИФА) и детекции вирусной РНК с помощью обратной транскрипции (ОТ) с ПЦР в реальном времени. Сравнение чувствительности и специфичности методов детекции ВКЭ свидетельствует о необходимости комбинированных подходов. Специфичные и эффективные препараты для лечения КЭ в настоящее время неизвестны. Поэтому схемы лечения в разных странах, расположенных в зонах риска, различаются. В России лечение КЭ основано на применении специфического иммуноглобулина из сывороток крови доноров, аналогов или индукторов интерферонов, а также рибонуклеазы А (РНКаза А) из поджелудочной железы быка. Однако известно, что высокомолекулярные белки, к которым относятся иммуноглобулины и РНказы с молекулярной массой от 12,3—13,7 до 45—150 кД, не способны проникать в эукариотические клетки и внеклеточные вирионы, следовательно, их возможное действие ограничивается поверхностями инфицированных клеток и вирионов. Также не исключен риск контаминации препаратов из донорской крови или органов животных инфекционными агентами.

Ключевые слова: генетические типы вируса клещевого энцефалита; инактивированные вакцины; генная иммунизация рекомбинантными ДНК и РНК; множественные антигенные пептиды; адьюванты; цитокины; иммуноферментный анализ; обратная транскрипция с ПЦР в реальном времени; аналоги и индукторы интерферонов; иммуноглобулины донорской крови; РНКаза А для лечения клещевого энцефалита; искусственные РНказы.

Для цитирования: Российский медицинский журнал. 2014; 20 (6): 26—31.

Morozova O.V.

THE PROBLEMS AND PERSPECTIVES OF PREVENTION, DIAGNOSTIC AND TREATMENT OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS

The D.I. Ivanovskii research institute of virology of Minzdrav of Russia, 123098, Moscow, Russia

♦ The circulation of virus of tick-borne encephalitis in composition of stable parasitic system including virus, tick-agents and vertebrata of many species excludes possibility of total elimination of virus under alteration of numbers of particular species of tank hosts. The inactivated vaccines developed about 40—77 years ago with vaccine strains of Far Eastern and European genetic types are applied to prevent tick-borne encephalitis in spite of domination of Siberian type of virus of tick-borne encephalitis in most endemic oblasts of Russia. The new approaches to development of vaccines include application of modern strains of three main genetic types of virus of tick-borne encephalitis using cell cultures instead of fibroblasts of chicken embryos. The DNA- and RNA-immunization, multiple antigen peptides and alteration of adjuvants and addition of cytokines are applied

too. The diagnostic of tick-borne encephalitis is based on detection of antibodies in enzymeimmunoassay and detection of viral RNA using reverse transcription with polymerase chain reaction in real-time. The comparison of techniques of detection of tick-borne encephalitis according their sensitivity and specificity objectifies necessity of combined approaches. The specific and effective preparations for treatment of tick-borne encephalitis are unknown nowadays. Therefore, the schemes of treatment in different countries situated in risk zones differ. In Russia, treatment of tick-borne encephalitis is based on application of specific immunoglobulin from serums of donor blood, analogues or inductors of interferons and ribonuclease A from pancreas of bull as well. However, it is known that such high molecular weight proteins as immunoglobulins and ribonucleases with molecular mass from 12.3–13.7 to 45–150 kD are not capable to penetrate eukaryotic cells and extra cellular virions. Hence, their possible effect is limited by surfaces of infected cells and virions. Also, the risk of contamination of preparations from donor blood or organs of animals as infection agents is not excluded.

Keywords: genetic type; tick-borne encephalitis; inactivated vaccine; gene immunization; recombinant DNA and RNA; multiple antigen peptides; adjuvant; cytokine; enzymeimmunoassay; reverse transcription with polymerase chain reaction in real-time; analogues and inductors of interferons; immunoglobulins; donor blood; ribonuclease A; treatment; artificial ribonuclease.

Citation: Rossiiskii meditsinskii zhurnal. 2014; 20 (6): 26—31. (In Russ.)

В природных очагах вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) циркулирует в составе устойчивой паразитарной системы, включающей вирус, его членистоногих хозяев (иксодовых клещей-переносчиков) и позвоночных резервуарных хозяев (прокормителей клещей) многих видов, поэтому полная элиминация вируса невозможна. Формирование и развитие природных очагов клещевого энцефалита (КЭ) в зонах тайги и смешанных лесов Евразии с регистрацией заболевания в Северном Китае, Японии и Корее на востоке, в России и более чем в 30 странах Европы на западе зависят от комплекса экологических факторов (температура, относительная влажность воздуха, влажность почвы, особенности растительности, а также плотность и динамика численности популяций клещей и их прокормителей, вирусофорность клещей, восприимчивость к ВКЭ и иммунная прослойка у позвоночных резервуарных хозяев и др.) [1—3]. Стабильность паразитарной системы КЭ обусловлена полигостальностью, многообразием циклов трансмиссии и адаптацией ВКЭ к различным резервуарным хозяевам. Вероятность контактов жителей эндемичных областей с ВКЭ может быть оценена на основании анализа вирусофорности иксодовых клещей и иммунной прослойки населения. При этом параметры, традиционно используемые для оценки эпидемической активности природных очагов КЭ, — обилие иксодовых клещей и частота их зараженности ВКЭ — не коррелируют с уровнями заболеваемости людей на различных эндемичных территориях [4]. Среди населения эндемичных областей до начала массовой иммунизации вирусспецифические антитела обнаруживали у 4—8% населения Австрии, 2—38% — Чехии, 0,4—39% — Финляндии, 7—42% — Германии и 30—100% — России [3]. Иммунная прослойка взрослого населения в эндемичных областях России составляет около 40%. Так, в 2007 г. в Республике Алтай среди 1405 обследованных доноров методом ИФА у 508 (36,2%) обнаружены антитела к белку Е ВКЭ [5]. Однонаправленная положительная зависимость между солнечной активностью, выраженной в числах Вольфа (число пятен и их групп на диске Солнца), и заболеваемостью КЭ выявлена в Новосибирске и Иркутске [6].

Со времени открытия ВКЭ в 1937 г. до сегодняшнего времени не прекращаются исследования, направленные на создание и усовершенствование методов профилактики, диагностики и лечения КЭ.

Вакцины против клещевого энцефалита: прошлое, настоящее и будущее

Активная иммунизация инактивированными вакцинами является наиболее эффективным способом специфической профилактики КЭ [7]. Так, Австрия лидировала в Европе по заболеваемости КЭ с ежегодной госпитализацией до 700 пациентов. После введения массовой

вакцинации от КЭ в 1981 г. заболеваемость резко снизилась. В Австрии вакцинировано 88% населения, при этом только в 58% случаев отсутствовали нарушения рекомендованной схемы иммунизации, а заболеваемость была снижена до единичных случаев лишь среди непривитых лиц. Если не считать Австрии, успехи иммунизации в других эндемичных областях не столь очевидны, поскольку вакцины относительно дороги и для поддержания защитного иммунитета требуются повторные инъекции [7]. В соседних западноевропейских странах со сходными климатическими условиями при уровнях охвата населения вакцинацией в Чешской Республике 11%, Германии — 13%, Литве — 6% наблюдается периодический рост заболеваемости КЭ [8]. В России иммунизировано в среднем 5—7% населения, а заболеваемость оставалась относительно низкой с 2003 по 2011 г. Незначительный охват населения иммунизацией не влияет на периодически изменяющуюся заболеваемость КЭ. Исключения составляют Свердловская область и Республика Алтай, в которых уровни иммунизации составляют 78 и 40% населения соответственно. При этом именно в этих эндемичных областях уровни заболеваемости КЭ остаются высокими и превышают ежегодные среднероссийские показатели в 6—10 раз. Вакцинация не всегда предотвращает заболевание, однако среди иммунизированных лиц заболеваемость в 2 раза ниже и для них характерны более легкие лихорадочные формы КЭ.

В настоящее время в России разрешены 6 типов вакцин против КЭ, полученных инаktivацией формалином ВКЭ из первичных культур фибробластов куриных эмбрионов. При производстве инаktivированных вакцин российские производители (Предприятие Института полиомиелита и вирусных энцефалитов РАМН (ПИПИВЭ), Московская область, и НПО "Микроген", Томск) традиционно используют штаммы ВКЭ дальневосточного генетического типа, а зарубежные фирмы "Baxter" (Австрия) и "Novartis" (Германия) — западноевропейские штаммы, в Китае производство вакцины основано на применении дальневосточного штамма ВКЭ Сеньжанг, несмотря на доминирование сибирского генетического типа ВКЭ в большинстве эндемичных областей России и ближнего зарубежья, за исключением Томска, Дальнего Востока России и Северного Китая, где относительная частота встречаемости дальневосточного типа ВКЭ остается высокой [8—11]. Несмотря на гомологию 95,6% аминокислотных остатков гликопротеина оболочки вирионов Е — основного иммуногена и мишени для вируснейтрализующих антител у различных генетических типов ВКЭ [12] — вариабельность других вирусных антигенов может достигать 10% для разных изолятов ВКЭ.

Длительная схема трехразовой иммунизации и необходимость ревакцинации каждые 3 года делают необхо-

димым поиск новых способов профилактики не только КЭ, но и других инфекций, экологически связанных с клещами. В 90-е годы прошлого века после определения первичных структур полноразмерных геномов вакцинных штаммов ВКЭ [13—15] гены E, M и NS1, кодирующие поверхностные гликопротеины, были клонированы в эукариотических экспрессирующих векторах. В результате вакцинации мышей рекомбинантными плазмидами с генами rgM, E и NS1 ВКЭ выявлен защитный эффект ДНК-иммунизации от гомологичного штамма вируса. Рекомбинантные ДНК оказались нестабильными в эукариотических клетках. Через 10 ч после внутримышечной инъекции оставалось 0,001%, а через 24 ч — 0,0000001% от исходной плазмиды. Помимо этого, обнаружены генетические перестройки рекомбинантных плазмид и интеграция в хромосомы клеток. Вакцины на основе рекомбинантных РНК исключают возможность хромосомных перестроек в хозяйских клетках, однако быстрая деградация РНК требует повторных введений. Для рекомбинантных РНК протективный эффект был обнаружен только после введения полноразмерных геномных РНК, но не фрагментов генома, содержащих гены поверхностных антигенов E и NS1. Конструирование рекомбинантных и химерных флавивирусов не обеспечивает гомогенности геномных РНК вирусных квазивидов из-за ошибок репликасы при репродукции вирусов и отсутствия систем репарации РНК в хозяйских клетках, а также не исключает рекомбинации с эндогенными флавивирусами и возможности селекции патогенных вариантов. Относительную безопасность могут обеспечить только рекомбинантные аттенуированные флавивирусы, полученные при совместной трансфекции культур клеток несколькими плазмидами ДНК с клонированными фрагментами генома.

Мукозальная иммунизация мышей рекомбинантными граммотрицательными бактериями, презентующими на поверхности и секретирующими неструктурный гликопротеин NS1 ВКЭ, приводила к индукции антител с высокими титрами, которые не обеспечивали защиты от заражения даже гомологичными штаммами вируса [16, 17].

Одним из наиболее консервативных фрагментов белков флавивирусов, находящихся на поверхности вириона, является пептид слияния. Изначально линейный синтетический пептид, соответствующий консервативному фрагменту с 98-го по 113-й аминокислотный остаток белка E ВКЭ, был конъюгирован с гемоцианином улитки KLN, и в результате иммунизации крыс обнаружены вируснейтрализующие антитела с высоким индексом нейтрализации 3,0 [18]. В 2008 г. пептид слияния флавивирусов, переносимых клещами, был включен в состав множественных антигенных пептидов (МАП), моделирующих конформационные антигенные детерминанты. Помимо В-клеточного эпитопа — пептида слияния в состав МАП были введены Т-клеточные эпитопы для обеспечения сбалансированного иммунного ответа. Без конъюгирования с высокомолекулярными антигенами МАП индуцировали антитела с высокими титрами, способные ингибировать гемагглютинацию и нейтрализовать ВКЭ и другие флавивирусы [19]. Безопасность, низкая стоимость, химическая стабильность, возможность выбора консервативных фрагментов белков с поверхностной локализацией, высокая плотность расположения эпитопов, антигенность и иммуногенность МАП позволяют разрабатывать подходы к профилактике и медицинской диагностике различных переносимых клещами РНК-содержащих флавивирусов.

В настоящее время традиционные технологии получения инактивированных вакцин против КЭ на основе

развивающихся куриных эмбрионов не могут обеспечить потребности здравоохранения. Начиная с 1995 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рекомендует разрабатывать вакцины с использованием в качестве субстрата не куриных эмбрионов, а перевиваемых культур клеток. Анализ генетической гетерогенности и перестроек квазивидов ВКЭ свидетельствует о том, что при разработке комбинированных вакцин нового поколения необходимо сочетание 3—5 штаммов, выделенных от клещей в разных природных очагах и относящихся к разным типам ВКЭ. Изоляты ВКЭ, выделенные от диких млекопитающих, отличаются низкими патогенностью, репродуктивной активностью и иммуногенностью при заражении лабораторных мышей, в связи с чем рассматривать их в качестве кандидатов на вакцинные штаммы нецелесообразно.

Ограниченный защитный эффект инактивированных вакцин и относительно короткая иммунологическая память вызваны преимущественно гуморальным иммунным ответом, который отличается от сохраняющегося десятилетиями иммунитета после инфекции ВКЭ. Дополнительное введение цитокинов может модулировать сбалансированный иммунный ответ. Применение цитокинов целесообразно при вакцинации лиц с иммунодефицитами, для которых вакцины обычного состава недостаточно эффективны. Для усиления клеточного иммунного ответа в состав вакцин добавляют интерлейкины 1, 2 и 12, интерферон-γ (ИФН-γ), а также липосомы, сополимеры для проникновения антигенных комплексов в клетки иммунной системы для презентации антигенов из клеток с индукцией иммунного ответа Th1-типа, препараты пролонгированного высвобождения и иммуностимулирующие комплексы, но все они находятся в экспериментальной стадии разработки и пока не разрешены для вакцинации людей. Содержание нуклеиновых кислот в современных вакцинах не контролируется, однако спектры цитокинов после иммунизации свидетельствуют об активации макрофагов, Т- и В-лимфоцитов.

Развитие и парадоксы сравнения методов детекции ВКЭ

Диагностика КЭ не базируется на универсальных методах и тест-системах и различается в разных странах [20]. Детекцию ВКЭ можно проводить посредством заражения перmissive культур клеток или мышей-сосунков, реакций гемагглютинации (РГА) и торможения гемагглютинации (РТГА), а также с помощью обратной транскрипции (ОТ) и ПЦР с электрофоретической или гибридационно-флюоресцентной детекцией продуктов в реальном времени, прямой и обратной молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот (МГНК) и иммуноферментного анализа (ИФА). При этом только метод биопробы обеспечивает детекцию патогенного ВКЭ. Молекулярно-биологические методы направлены на выявление компонентов ВКЭ независимо от вирулентности. При этом ОТ с эффективностью 20—80% является лимитирующей стадией, ограничивающей чувствительность метода и линейность количественных оценок. Чувствительность ОТ с двухраундовой ПЦР соответствует десяткам копий вирусной РНК, но широкое применение этого метода ограничивается риском перекрестной контаминации проб. Использование ОТ-ПЦР с флюоресцентными зондами в реальном времени позволяет одновременно проводить детекцию, идентификацию с точностью до генетического типа и количественные оценки вирусных нагрузок, а также уменьшает риск контаминации.

При прямой молекулярной гибридизации иммобилизованных на нитроцеллюлозных фильтрах вирусных РНК с олигонуклеотидными или полинуклеотидными зондами предел чувствительности составляет 10^6 пг РНК ВКЭ, что с учетом молекулярной массы РНК ВКЭ $3,75 \cdot 10^6$ Д соответствует 10^6 вирионов. Специфичность МГНК можно повысить при изменении условий гибридизации (повышение температуры, внесение 50% формамида в гибридизационный раствор и др.).

В диагностике широко применяются разнообразные методы определения антигенов ВКЭ и специфичных антител благодаря относительной простоте и дешевизне анализов. Однако наличие серонегативных пациентов и возможные перекрестные серологические реакции требуют использования дополнительных методов детекции. При этом чувствительность ИФА превышает пределы РГА и реакции связывания комплемента (РСК). Предел чувствительности диагностических систем производства ЗАО "Вектор-Бест" (<http://www.vector-best.ru>) составляет приблизительно 0,5 нг/мл антигена Е ВКЭ. При этом повышение чувствительности ИФА сопровождается снижением специфичности с детекцией переносимых клещами флавивирусов: ВКЭ, омской геморрагической лихорадки и Повассан. Однако даже при достаточно высокой чувствительности ИФА остается вероятность ложноотрицательных проб. Поэтому результаты ИФА при экспресс-анализе клещей, снятых с людей, не могут служить гарантией безопасности. На основании сравнительного анализа методов биопробы, ИФА и ОТ-ПЦР для детекции ВКЭ в суспензиях клещей можно заключить, что современные молекулярно-биологические методы не позволяют детектировать единичные вирионы. Клещи, содержащие высоковирулентный вирус в концентрациях ниже пределов чувствительности ИФА и ОТ-ПЦР, представляют высокую опасность для людей.

В большинстве стран для клинической диагностики применяют только ИФА с ограниченной чувствительностью и специфичностью, а альтернативные более специфичные методы используют только в Бельгии, Эстонии, Франции, Греции, Словении, Испании, Голландии [20] и в последние годы в России. Для универсального подхода к мониторингу и статистике недавно была создана Европейская сеть для диагностики импортированных вирусных заболеваний (European Network for Diagnostics of "Imported" Viral Diseases — ENIVD), позволяющая сравнивать эпидемиологические данные из разных эндемичных регионов Евразии.

По мере усовершенствования методов диагностики увеличивался объем данных о заболеваемости КЭ, пока не стало очевидным, что заболеваемость людей повсеместно подвержена цикличности со значительными периодическими подъемами 1 раз в 10—12 лет и небольшими пиками каждые 3—4 года [4]. Период максимальной заболеваемости населения на эндемичных по КЭ территориях длится 1—2 года, затем в течение 1—5 лет происходит спад заболеваемости с последующей стабилизацией на минимальном уровне, продолжающемся 6—7 лет, и новым подъемом до максимального уровня. Цикличность изменений характерна не только для общего уровня заболеваемости, но и для соотношения клинических форм. Максимальная заболеваемость отмечена в 1956 г., когда было зарегистрировано 5163 случая (4,5 на 100 тыс. населения), и в 1964 г. (5205 случаев). Затем до 1974 г. происходило снижение заболеваемости до 1119 случаев. С 1974 г. начался рост заболеваемости КЭ. В период 1976—1989 гг. средняя ежегодная заболеваемость КЭ в Европе и России составляла 2755 случа-

ев, а начиная с 1990 г. наблюдался рост заболеваемости почти на 400%, в среднем до 8755 случаев в год [20]. Только в 1999 г. в мире было зарегистрировано 11 356 случаев КЭ (www.tbe-info.com). В России максимальная заболеваемость отмечена в 1996 г. — 10 298 человек и в 1999 г. — 9955 человек [4, 6, 7, 16, 20]. Эти заниженные оценки заболеваемости КЭ объясняются численностью госпитализированных пациентов с диагнозами энцефалита, менингоэнцефалита или менингоэнцефаломиелита и составляют около 20—30% от истинного количества людей, инфицированных ВКЭ.

Лечение клещевого энцефалита: от индукции неспецифической резистентности к низко-молекулярным искусственным рибонуклеазам

Специфичные и эффективные препараты для лечения КЭ в настоящее время неизвестны. Поэтому предлагаемые схемы лечения в разных странах, входящих в зоны риска, различаются. В России лечение КЭ основано на применении специфического иммуноглобулина из сывороток крови доноров, аналогов ИФН — виферона, реаферона-ЕС-липидата (человеческий рекомбинантный ИФН- α_2 и ИФН- α_{2b}) или индукторов ИФН — ларифана, неовира, тилорона, амиксина, циклоферона, ремантадина, ридостина, камедона, йодантипирина, цитофлавина, энириона, маннитола, ноотропила, пентоксифиллина и др.), а также рибонуклеазы А (РНказы А) из поджелудочной железы быка. Однако известно, что высокомолекулярные белки, к которым относятся иммуноглобулины и РНказы с молекулярной массой от 12,3—13,7 до 45—150 кД, не способны проникать в эукариотические клетки и внеклеточные вирионы, следовательно, их возможное действие ограничивается поверхностями инфицированных клеток и вирионов. Также не исключен риск контаминации препаратов из донорской крови или органов животных инфекционными агентами. В присутствии антител, специфичных к гликопротеину Е, инфекционность флавивирусов может возрастать, что приводит к сокращению среднего времени жизни и гибели иммунизированных животных после заражения [21, 22]. Иммунные комплексы вирионов со специфичными антителами проникают в моноциты через F_c -рецептор, приводя к увеличению количества зараженных клеток и, следовательно, более продуктивной инфекции. При этом увеличиваются концентрации цитокинов и количество лимфоцитов, что приводит к каскадному повышению уровня инфицированности организма. Эффект иммунного усиления инфекционности флавивирусов (antibody-dependent enhancement) является эпитопоспецифичным и индуцируется не любыми моноклональными антителами к гликопротеину Е [22]. Возможно, иммунное усиление инфекционности обусловлено как проникновением комплексов вирионов с антителами к гликопротеину Е в моноциты и макрофаги в результате связывания с F_c -рецептором [23], так и активацией синтеза РНК в результате связывания белка Е, экранирующего РНК-матрицу [16]. Поэтому введение специфического иммуноглобулина возможно не позднее 96 ч после укуса клеща, и такая терапия не рекомендована в европейских странах, несмотря на производство иммуноглобулинов.

Препараты ИФН (реаферон, лейкинферон и др.) можно вводить внутримышечно, внутривенно, эндолумбально и эндолимфатически. Однако большие дозы ИФН $1—6 \cdot 10^6$ МЕ обладают иммунодепрессивным свойством, а устойчивость клеток к проникновению вируса не прямо пропорциональна титрам ИФН. Поэтому целесообразно использовать относительно небольшие

дозы препарата либо применять индукторы интерферона (двухцепочечная РНК фага 2, амиксин, камедон и др.), обеспечивающие невысокие титры ИФН и обладающие иммуномодулирующим свойством. Дополнительно назначают искусственную вентиляцию легких при нарушении сознания, панангин при нарушениях ритма и проводимости сердца, а также общеукрепляющие растворы глюкозы.

В европейских эндемичных областях лечение КЭ предусматривает строгий постельный режим, поддержание водно-солевого баланса и применение парацетамола, аспирина, нестероидных противовоспалительных препаратов, анальгетиков, витаминов и антипиретиков. В тяжелых случаях врачи рекомендуют кортикостероиды, хотя их использование официально не разрешено [20].

В Китае к общепринятым методам лечения клещевых нейроинфекций добавляют фитопрепараты, содержащие витамины и микроэлементы, многие из которых разрешены для применения на территории России.

Многочисленные попытки ингибирования репродукции ВКЭ аналогом нуклеозида рибавирином, который широко используется для лечения гепатита С и полиомиелита, оказались безуспешными. Для аффинного взаимодействия с большими неструктурными белками ВКЭ NS3 и NS5 использовали альдегидсодержащие и 4-N-экзофотореакционные аналоги нуклеотидов, большинство которых не токсичны для пермиссивных эукариотических клеток, однако в присутствии этих аналогов нуклеотидов ингибирование репликации ВКЭ в инфицированных клетках было неполным [16].

Помимо природных белковых рибонуклеаз известны искусственные РНКазы на основе металлокомплексов, биогенных аминов, антисмысловых олигонуклеотидов, рибозимов и пептидов. Необходим скрининг комбинаторных библиотек с целью обнаружения и последующей идентификации лекарственных препаратов, обладающих высокой противовирусной активностью и низкой токсичностью для хозяйских клеток. Как показал опыт применения нуклеозидных и нуклеотидных ингибиторов ферментов РНК-содержащих вирусов гепатита С и полиомиелита, перестройки квазивидов и мутагенез приводят к быстрому возникновению устойчивости к индивидуальным изначально эффективным препаратам. Поэтому рекомендуют комбинированную терапию.

Для ингибирования проникновения флавивирусов в клетки возможно использование коротких пептидов или других соединений, конкурирующих с гликопротеином Е за связывание с клеточными рецепторами. Альтернативный подход включает уменьшение градиента pH между клеточными компартментами, что необходимо для слияния и освобождения вирусной РНК. Обработка клеток макролидным антибиотиком бафиломицином А1 приводит к полному исчезновению эндосом с низкими значениями pH [24]. Известно, что ингибиторы протеаз бензамидин и PMSF неактивны по отношению к флавивирусной протеазе NS3, в то время как палматин и производные пиразола могут ингибировать процессинг флавивирусных белков [24]. Дальнейшие исследования по разработке противовирусных препаратов должны быть направлены на вирусспецифичные препараты, способные проникать через мембраны клеток и оболочечных вирусов.

ЛИТЕРАТУРА

- Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я. *Арбовирусы и арбовирусные инфекции*. М.: Медицина; 1989.
2. Коротков Ю.С., Никитин А.Н., Антонова А.М. Роль климатических факторов в многолетней динамике заболеваемости населения г. Иркутск клещевым энцефалитом. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2007; 3: 121—5.

3. *Tick-Borne Encephalitis (TBE) and its Immunoprophylaxis*. Immuno AG, Vienna, Austria; 1996.
4. Морозова О.В., Бахвалова В.Н. *Природные циклы и клещевой энцефалит. В мире научных открытий*. 2010; 2, ч. 1: 31—7. Available at: <http://nkras.ru/vmno/issues/articles/2010/2-1.pdf>.
5. Щучинова Л.Д. *Эпидемиологический надзор и контроль инфекций, передающихся клещами, в Республике Алтай*: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Омск; 2009.
6. Бериков В.Б., Лбов Г.С., Полякова Г.Л., Бахвалова В.Н., Панов В.В., Щучинова Л.Д. и др. Анализ факторов, влияющих на заболеваемость клещевым энцефалитом, с использованием логико-вероятностных и корреляционно-регрессионных моделей. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2011; 6: 25—34.
7. Mansfield K.L., Johnson N., Phipps L.P., Stephenson J.R., Fooks A.R., Solomon T. Tick-borne encephalitis virus — a review of an emerging zoonosis. *J. Gen. Virol.* 2009; 90(8): 1781—94.
8. Леонова Г.Н. *Клещевой энцефалит: актуальные аспекты*. М.: Издатель И.В. Балабанов, 2009.
9. Локтев В.Б. Вирус клещевого энцефалита, генетические особенности и его изменчивость в современном мире. *Бюллетень СО РАМН*. 2007; 4: 14—21.
10. Пуховская Н.М. *Изучение природных популяций вируса клещевого энцефалита методом молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот*: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М.; 1994.
11. Lu Z., Bröker M., Liang G. *Tick-borne encephalitis in mainland China*. Vector Borne Zoonotic Dis. 2008; 8 (5): 713—20.
12. Holzmann H., Vorobyova M.S., Ladyzhenskaya I.P., Ferenczi E., Kundl M., Kunz C., Heinz F.X. Molecular epidemiology of tick-borne encephalitis virus: cross-protection between European and Far Eastern subtypes. *Vaccine*. 1992; 10(5): 345—9.
13. Mandl C.W., Heinz F.X., Stöckl E., Kunz C. Genome sequence of tick-borne encephalitis virus (Western subtype) and comparative analysis of nonstructural proteins with other flaviviruses. *Virology*. 1989; 173(1): 291—301.
14. Pletnev A.G., Yamshchikov V.F., Blinov V.M. Nucleotide sequence of the genome and complete amino acid sequence of the polyprotein of tick-borne encephalitis virus. *Virology*. 1990; 174(1): 250—63.
15. Сафронов П.Ф., Негесов С.В., Капустинский С.П., Осипова Е.Г., Киселева Н.Н., Сандахчиев Л.С. Вирус клещевого энцефалита: первичная структура ДНК-копии генома штамма 205. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 1990; 1: 6—13.
16. Морозова О.В. *Свойства некоторых белков вируса клещевого энцефалита*: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск; 2001.
17. Морозова О., Бахвалова В. *Вакцины против клещевого энцефалита: прошлое, настоящее и будущее*. Lambert Academic Publishing (LAP), Saarbrücken, Germany, 2011.
18. Волкова Т.Д., Вольпина О.М., Иванов В.Т., Рубин С.Г., Семашко И.В., Караванов А.С. Изучение антигенной структуры вируса клещевого энцефалита с использованием синтетических пептидов. *Биоорганическая химия*. 1998; 24(2): 100—11.
19. Морозова О.В., Бахвалова В.Н., Матвеев Л.Э., Шевцова А.С., Исаева Е.И., Злобин В.И. и др. Антигенные и иммуногенные свойства множественных антигенных пептидов, включающих пептид слияния флавивирусов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2009; 6: 44—50.
20. Mantke O.D., Schädler R., Niedrig M. A survey on cases of tick-borne encephalitis in European countries. *Eurosurveillance*. 2008; 13(17). Available at: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=18916>
21. Peiris J.S.M., Porterfield J.S. Antibody-mediated enhancement of flavivirus replication in macrophage cell lines. *Nature (London)*. 1979; 282: 509.
22. Phillpotts R.J., Stephenson J.R., Porterfield J.S. Antibody-dependent enhancement of tick-borne encephalitis virus infectivity. *J. Gen. Virol.* 1985; 66(8): 1831—7.
23. Thomas D.B. *Viruses and the cellular immune response*. New York, Basel, Hong Kong, 1993.
24. Baier A. Flavivirus infections and potential targets for antiviral therapy. In: *Ruzek D., ed. Flavivirus encephalitis*. Intech, Croatia; 2011: 89—104.

REFERENCES

1. Lvov D.K., Klimenko S.M., Gaydamovich S.Ya. *Arboviruses and arboviral infections*. Moscow: Meditsina; 1989. (in Russian)

2. Korotkov Yu.S., Nikitin A.N., Antonova A.M. Role of climate factors in long-term dynamics of the tick-borne encephalitis rate in Irkutsk. *Byulleten' VSNK SB RAMN*. 2007; 3: 121—5. (in Russian)
3. *Tick-Borne Encephalitis (TBE) and its Immunoprophylaxis*. Immuno AG, Vienna, Austria; 1996.
4. Morozova O.V., Bakhvalova V.N. *Natural cycles and the tick-borne encephalitis*. *V mire nauchnykh otkrytiy*. 2010; 2 (Part 1): 31—7. Available at: <http://nkras.ru/vmno/issues/articles/2010/2-1.pdf> (in Russian)
5. Schuchinova L.D. *Epidemiological control of the tick-borne infections in the Altay Republic*. Diss. Omsk; 2009. (in Russian)
6. Berikov V.B., Lbov G. S., Polyakova G. L., Bakhvalova V.N., Panov V.V., Schuchinova L.D. et al. Analysis of factors with influence on the tick-borne encephalitis rate using logical-and-probabilistic and correlation-regression models. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2011; 6: 25—34. (in Russian)
7. Mansfield K.L., Johnson N., Phipps L.P., Stephenson J.R., Fooks A.R., Solomon T. Tick-borne encephalitis virus — a review of an emerging zoonosis. *J. Gen. Virol*. 2009; 90(8): 1781—94.
8. Leonova G.N. *Tick-borne encephalitis: actual aspects*. Moscow: Publisher I.V. Balabanov; 2009. (in Russian)
9. Loktev V.B. The tick-borne encephalitis virus, genetic features and its variability in the modern world. *Byulleten' SO RAMN*. 2007; 4: 14—21. (in Russian)
10. Pukhovskaya N.M. *Study of natural populations of the tick-borne encephalitis virus by methods of molecular hybridization of nucleic acids*. Diss. Moscow; 1994. (in Russian)
11. Lu Z., Bröker M., Liang G. *Tick-borne encephalitis in mainland China*. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2008; 8(5): 713—20.
12. Holzmann H., Vorobyova M.S., Ladyzhenskaya I.P., Ferenczi E., Kundi M., Kunz C., Heinz F.X. Molecular epidemiology of tick-borne encephalitis virus: cross-protection between European and Far Eastern subtypes. *Vaccine*. 1992; 10(5): 345—9.
13. Mandl C.W., Heinz F.X., Stöckl E., Kunz C. Genome sequence of tick-borne encephalitis virus (Western subtype) and comparative analysis of nonstructural proteins with other flaviviruses. *Virology*. 1989; 173(1): 291—301.
14. Pletnev A.G., Yamshchikov V.F., Blinov V.M. Nucleotide sequence of the genome and complete amino acid sequence of the polyprotein of tick-borne encephalitis virus. *Virology*. 1990; 174(1): 250—63.
15. Safronov I.F., Netesov S.V., Kapustiansky S.P., Osipova E.G., Kiselyova N.N., Sandakhcheev L.S. Tick-borne encephalitis virus: primary structure of DNA-copy of genome of the strain 205. *Molekulyarnaya genetika, microbiologiya i virologiya*. 1990; 1: 6—13. (in Russian)
16. Morozova O.V. *Properties of the tick-borne encephalitis virus proteins*. Diss. Novosibirsk; 2001. (in Russian)
17. Morozova O., Bakhvalova V. *Vaccines against the tick-borne encephalitis: past, present and future*. Lambert Academic Publishing (LAP), Saarbrücken, Germany; 2011.
18. Volkova T.D., Vol'pina O.M., Ivanov V.T., Rubin S.G., Semashko I.V., Karavanov A.S. Study of the antigenic structure of tick-borne encephalitis virus using synthetic peptides. *Bioorganicheskaya khimiya*. 1998; 24(2): 100—11. (in Russian)
19. Morozova O.V., Bakhvalova V.N., Matveev L.E., Shevtsova A.S., Isaeva E.I., Zlobin V.I. et al. Antigenic and immunogenic properties of multiple antigenic peptides including flavivirus fusion peptide. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika*. 2009; 6: 44—50. (in Russian)
20. Mantke O.D., Schädler R., Niedrig M. A survey on cases of tick-borne encephalitis in European countries. *Eurosurveillance*. 2008; 13(17). Available at: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=18916>
21. Peiris J.S.M., Porterfield J.S. Antibody-mediated enhancement of flavivirus replication in macrophage cell lines. *Nature (London)*. 1979; 282: 509.
22. Phillips R.J., Stephenson J.R., Porterfield J.S. Antibody-dependent enhancement of tick-borne encephalitis virus infectivity. *J. Gen. Virol*. 1985; 66(8): 1831—7.
23. Thomas D.B. *Viruses and the cellular immune response*. New York, Basel, Hong Kong, 1993.
24. Baier A. Flavivirus infections and potential targets for antiviral therapy. In: Ruzek D., ed. *Flavivirus encephalitis*. Intech, Croatia; 2011: 89—104.

Поступила 27.02.14
Received 27.02.14