

*На правах рукописи*

**Насырова Регина Фаритовна**

**ИММУНОПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ  
АНТИГЕНЕМИИ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО  
ЭНЦЕФАЛИТА**

14.00.16 – патологическая физиология  
14.00.13 – нервные болезни

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Томск-2006

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

**Научные руководители:**

доктор медицинских наук

Рязанцева Наталья Владимировна

доктор медицинских наук

Жукова Наталья Григорьевна

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук,  
профессор

Степовая Елена Алексеевна

доктор медицинских наук,  
профессор

Мирютова Наталья Федоровна

**Ведущая организация:**

ГОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет»  
Росздрава

Защита состоится «\_\_» марта 2006 г. в \_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при Сибирском государственном медицинском университете (634050, Томск, Московский тракт, 2)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, Томск, пр. Ленина, 107)

Автореферат разослан 14 февраля 2006 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

Суханова Г.А.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

*Актуальность исследования.* Клещевой энцефалит – одно из самых распространенных классических природно-очаговых заболеваний нервной системы. Главной особенностью клещевого энцефалита является циклический характер эпидемического процесса с неуклонным его ростом в последние годы. Цикличность эпидемического процесса отмечена не только во времени и по территории, но и среди клинических форм нейроинфекции. Изменение эпидемиологии, клинических проявлений и течения болезни произошло под влиянием различных факторов: экологических, социально-экономических и лечебно-профилактических [Шубин Н.В., 1957; Шаповал А.Н., 1961; Дубов А.В., 1996; Злобин В.И., Горин О.З., 1996; Иерусалимский А.П., 2003; Аммосов А.Д., 2002].

Анализ клинических проявлений клещевого энцефалита, проведенный в Томской области Н.Г. Жуковой и соавт. [2002], выявил перераспределение соотношения клинических проявлений острого периода в пользу преобладания лихорадочных форм нейроинфекции (до 89%) наряду с устойчивым снижением числа менингеальных и очаговых форм. Следует в то же время отметить четкую тенденцию к возрастанию частоты длительной персистенции антигена вируса клещевого энцефалита, выраженность клинических проявлений которой варьирует от бессимптомного носительства до манифестации нейроинфекции [Команденко Н.И., 1974; Погодина В.В. и соавт., 1986; Исаева М.П. и соавт., 1998; Bakhlova V.N. et al., 2000; Иерусалимский А.П., 2001; Ратникова Л.И. и соавт., 2002; Calza L., 2004].

Современный клинический облик данной нейроинфекции связан со способностью вируса клещевого энцефалита длительное время сохраняться в активном состоянии даже после адекватного лечения острых форм заболевания [Маянский А.Н., 1999; Jaussaud R. et al., 2001; Антонов П.В., Цинзерлинг В.А., 2001; Аммосов А.Д., 2002; Calza L., 2004]. Согласно современным представлениям, вирусная интервенция мобилизует все врожденные и адаптивные иммунные механизмы, направленные на ограничение и элиминацию инфекции [Маянский А.Н. и соавт., 1998; Хаитов Р.М. соавт., 2000; Atrasheuskaya A.V. et al., 2003; Haglund M. et al., 2003]. В то же время при формировании инфекционного процесса вирусы для обеспечения собственного выживания используют пути, позволяющие им ускользать от действия протективных иммунных реакций организма. При этом возможность пролонгированного присутствия вирусного агента, обуславливающего клинические проявления инфекции, детерминирована несколькими компонентами: патогенностью инфекционного агента, факторами окружающей среды и состоянием иммунной системы макроорганизма. Вполне закономерно, что приоритетное значение в генезе дисбаланса иммунного

равновесия отводится вирусиндуцированным изменениям иммунокомпетентных клеток [Погодина В.В. и соавт., 1986; Alciati S. et al., 2001; Антонов П.В., Цинзерлинг В.А., 2001; Иерусалимский А.П., 2001; Ратникова Л.И. и соавт., 2002; Жукова О.Б. и соавт., 2003; Черницына Л.О. и соавт., 2004].

Панорамная оценка накопленных к настоящему времени клинико-эпидемиологических и экспериментальных исследований с применением современных молекулярно-биологических и иммунологических методов исследования создает вполне целостную картину патогенеза острых форм клещевого энцефалита. Вместе с тем обращает на себя внимание весьма незначительное число исследований, посвященных изучению иммунопатогенеза длительной персистенции вируса клещевого энцефалита. Это не позволяет эффективно осуществлять лечебные мероприятия, направленные на полноценную элиминацию вируса из макроорганизма. В связи с этим представляется актуальным проведение комплексной сравнительной оценки характера клеточной дифференцировки, межклеточной кооперации, апоптоза и ДНК-репарационной активности иммунокомпетентных клеток при различных клинических вариантах длительной персистенции вируса клещевого энцефалита. Полученные в указанном аспекте новые знания фундаментального характера позволят, на наш взгляд, расширить представления о патогенезе различных клинических проявлений клещевого энцефалита, создав тем самым основу для решения практической задачи прогнозирования течения и исхода нейроинфекции с целью усовершенствования профилактической и терапевтической стратегий.

**Цель исследования:** установить роль дисбаланса межклеточной кооперации мононуклеарных лейкоцитов в механизмах формирования длительной антигенемии вируса клещевого энцефалита.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи исследования:**

1. Дать характеристику клинических проявлений нейроинфекции у пациентов с длительной персистенцией вируса клещевого энцефалита, перенесших лихорадочную форму заболевания.
2. Определить направленность клеточной дифференцировки, характер нарушения баланса цитокинов Th1- и Th2-иммунного ответа и презентации комплементарных им рецепторов на лимфоцитах у пациентов с длительной персистенцией вируса клещевого энцефалита.
3. Выявить особенности апоптотической реакции и состояния ДНК-репарационной системы лимфоцитарных клеток у пациентов с персистенцией вируса клещевого энцефалита.

4. Установить клинико-иммунологические параллели при длительной персистенции вируса клещевого энцефалита у пациентов с бессимптомным течением и остаточными клиническими проявлениями нейроинфекции.

**Научная новизна.** В результате проведенного исследования получены новые данные, дополняющие существующие представления об иммунопатогенезе длительной антигенемии вируса клещевого энцефалита. Выявлено, что длительная антигенемия вируса клещевого энцефалита характеризуется бессимптомным течением или проявлениями остаточных симптомов нейроинфекции с превалированием психо-астенического синдрома. Продемонстрированы однонаправленные изменения реагирования клеточного звена системы иммунитета у пациентов с бессимптомной персистенцией вируса клещевого энцефалита и с остаточными проявлениями клещевого энцефалита, характеризующиеся дизрегуляцией дифференцировки, дисбалансом межклеточной кооперации и нарушением реализации программируемой гибели лимфоцитов периферической крови. Установлено, что длительная антигенемия вируса клещевого энцефалита приводит к дисбалансу Т-клеточного звена иммунной системы, что проявляется повышением уровня CD8+-лимфоцитов, снижением числа CD4+-клеток и значения иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+). Представлен механизм нарушения межклеточной кооперации иммунокомпетентных клеток при персистенции вируса клещевого энцефалита, проявляющийся выраженным дисбалансом продукции ключевых иммунорегуляторных цитокинов (INF $\gamma$ , IL2 и IL4) и презентацией комплементарных им рецепторов (INF $\gamma$ R, IL2R и IL4R). Получены данные, демонстрирующие, что длительная антигенемия вируса клещевого энцефалита сопровождается снижением активности эксцизионной репарации ДНК и нарушением реализации программируемой гибели лимфоцитов периферической крови.

**Теоретическая и практическая значимость.** Полученные данные фундаментального характера раскрывают иммунопатогенетические основы антигенемии вируса клещевого энцефалита. Результаты настоящего исследования могут служить основой для разработки новых подходов к прогнозированию клинического течения инфекционного процесса при персистенции вируса клещевого энцефалита, а также патогенетически обоснованных способов коррекции иммунных нарушений.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. В отдаленном периоде (более 6 мес) после перенесения лихорадочной формы клещевого энцефалита антигенемия вируса клещевого энцефалита характеризуется бессимптомным течением или остаточными проявлениями нейроинфекции в виде цереброгенной астении (психо-астенического синдрома).

2. У пациентов с длительным носительством антигена вируса клещевого энцефалита дисбаланс дифференцировки иммуноцитов проявляется снижением количества CD4+-клеток и иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+), сочетающийся с повышением численности CD8+-популяции лимфоцитов.
3. Нарушения продукции ключевых иммунорегуляторных цитокинов (INF $\gamma$ , IL2 и IL4), а также презентации лимфоцитами комплементарных им рецепторов (INF $\gamma$ R, IL2R и IL4R) обуславливают дизрегуляцию кооперации иммуноцитов и имеют однонаправленный характер независимо от выраженности клинических проявлений длительного носительства антигена вируса клещевого энцефалита.
4. Значительная роль в иммунопатогенезе антигенемии вируса клещевого энцефалита отводится угнетению активности эксцизионной репарации ДНК и нарушению апоптоза лимфоцитов периферической крови.

***Апробация и реализация работы.*** Результаты проведенных исследований докладывались и обсуждались на V Международном конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2004), V Сибирском физиологическом съезде (Томск, 2005), Всероссийской научно-практической конференции «Современная ситуация и перспективы борьбы с клещевыми инфекциями в XXI веке» (Томск, 2006), а также на научных семинарах кафедр патофизиологии, фундаментальных основ клинической медицины, неврологии и нейрохирургии, инфекционных болезней ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава (Томск, 2004-2005).

Основные положения и выводы диссертационной работы используются в материалах лекций по патологической физиологии (разделы «Патофизиология инфекционного процесса», «Патофизиология иммунной системы»), по инфекционным и нервным болезням (раздел «Нейроинфекции») для студентов 3, 4 и 5 курсов лечебного, педиатрического и медико-биологического факультетов ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава.

Исследование выполнено в рамках Федеральной целевой научно-технической программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития науки и техники на 2002-2006 годы» по мероприятию «Развитие системы ведущих научных школ как среды генерации знаний и подготовки научно-педагогических кадров высшей квалификации. Проведение научно-исследовательских работ по приоритетным направлениям Программы» по теме РИ-112/001/158 «Молекулярные механизмы предрасположенности и резистентности организма человека к персистентным бактериальным и вирусным инфекциям» (Государственный контракт № 02.445.7170 от 05.09.2005 г.).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 9 работ, из которых 3 - в центральных рецензируемых журналах «Перечня ...» ВАК.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация изложена на 162 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырёх глав, выводов и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 6 рисунками и 10 таблицами. Библиографический указатель включает 360 источника, из них 229 - отечественных и 131 – иностранных.

### **ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В настоящей работе приведены результаты комплексного клинико-лабораторного обследования 100 пациентов (65 мужчин и 35 женщин в возрасте от 18 до 50 лет, средний возраст -  $32 \pm 4$  лет) с длительной антигемией вируса клещевого энцефалита (от 6 до 36 мес) (табл. 1). Больные в остром периоде клещевого энцефалита в эпидемические сезоны 2002-2004 г. находились на стационарном лечении в специализированных лечебных учреждениях г. Томска: в инфекционной клинике ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава (зав. клиникой – к.м.н. Н.С. Бужак), терапевтическом отделении МЛПУ медико-санитарной части «Строитель» г. Томска (главный врач – Н.Н. Бартфельд). Все пациенты в последующем состояли на диспансерном учете в указанных лечебных учреждениях в течение 3 лет.

В острый период диагноз клещевого энцефалита устанавливался на основании эпидемиологических данных (присасывание или обнаружение ползающих клещей), указаний на инкубационный период, наличие клинических признаков (острое начало, общеинфекционный синдром, неврологические проявления) согласно классификации, предложенной А.В. Лепехиным и соавт. [2000] и МКБ-10 (рубрика А84.0). У всех обследованных диагностировали манифестную лихорадочную форму клещевого энцефалита средней степени тяжести.

В дальнейшем обследованные были разделены на две группы:

I группа – 50 пациентов с бессимптомным носительством антигена вируса клещевого энцефалита (более 6 месяцев после острого периода клещевого энцефалита);

II группа – 50 пациентов с остаточными проявлениями клещевого энцефалита в виде цереброгенной астении и антигемии вируса клещевого энцефалита (более 6 месяцев после острого периода клещевого энцефалита).

Диагноз верифицировали путем выявления антигена вируса клещевого энцефалита в клеще и крови у пациентов с использованием иммуноферментного анализа (ИФА), реакции непрямой гемагглютинации (РНГА), а также специфических антител классов IgM и IgG к антигену вируса

клещевого энцефалита (ИФА) и РНК вируса клещевого энцефалита с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Таблица 1

*Распределение здоровых доноров и пациентов с антигенемией вируса клещевого энцефалита в соответствии с использованными методами исследования*

№	Методы исследования		Группы обследованных		
			Здоровые доноры	Пациенты с бессимптомным носительством вируса клещевого энцефалита	Пациенты с остаточными проявлениями и клещевого энцефалита
1	Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с использованием иммуноцитохимического метода		19	25	24
2	Исследование спонтанной и ФГА-индуцированной цитокинпродуцирующей способности (IL2, 4, 10, INF $\gamma$ ) мононуклеарных лейкоцитов периферической крови с использованием иммуноферментного анализа		20	25	24
3	Оценка цитокинрецепторного аппарата лимфоцитов (IL2R, 4R, 10R, INF $\gamma$ RI) с использованием проточной цитофлуориметрии		20	21	20
4	Оценка апоптоза лимфоцитов периферической крови	Экспрессия CD95-рецептора с использованием иммуноцитохимического метода	20	25	24
		Цитофлуориметрическая оценка спонтанного и ФГА-активированного апоптоза общей популяции лимфоцитов в аннексиновом тесте	23	16	
5	Оценка системы эксцизионной ДНК-репарации методом сквинтиляционной радиометрии		21	25	27

Материалом исследования являлась венозная кровь обследованных лиц, взятая утром натощак. Кровь стабилизировали гепарином (25 Ед/мл).

Определение количества лимфоцитов периферической крови проводили стандартными гематологическими методами [Козинец Г.И., Макаров В.А., 1997].

Мононуклеары выделяли по методу Дж. Натвиг и соавт. [1980]. Для получения супернатантов выделенные мононуклеары ресуспендировали в полной питательной среде, стандартизировали количество клеток в суспензии до  $2,0 \times 10^6$ /мл. Для стимуляции секреторных способностей лимфоцитов в пробы вносили фитогемагглютинин (ФГА) («Difco», Германия) с дальнейшей инкубацией клеточной суспензии [Хаитов Р.М. и соавт., 1995].

Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови по CD-маркерам (CD3, CD4, CD8, CD22, CD56) проводили иммуноцитохимическим методом [Тотолян А.Н. и соавт., 2002]. Результаты выражали в процентных и абсолютных значениях.

Определение спонтанного и ФГА-стимулированного уровней интерферона- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ), интерлейкинов (IL2, IL4 и IL10) в супернатантах проводили с использованием твердофазного иммуноферментного «сэндвичевого» метода по инструкциям, предлагаемым производителями тест-систем («Procon», Россия; «Cytimmune», США). Учет результатов иммуноферментного анализа производили с помощью фотометра для микропланшетов «Multiscan EX» («ThermoLabSystems», Финляндия) при длине волны 450 (для IFN $\gamma$ , IL2 и IL4) и 490 нм (для IL10). Концентрацию цитокинов вычисляли по калибровочной кривой. Данные выражали в пг/мл.

Определение числа лимфоцитов, несущих комплементарные к IFN $\gamma$ , IL2, IL4 и IL10 рецепторы (IFN $\gamma$ RI, IL2R, IL4R и IL10R), в интактной и ФГА-активированной культурах клеток осуществляли методом проточной лазерной цитометрии на цитометре «Epics XL» («Beckman Coulter», Франция) с использованием моноклональных антител к цитокиновым рецепторам, меченных различными флюоресцентными метками: к IL4R мечены фикоэритрином PE («Immunotech», Франция), к IL2R – PE («Caltag», США), IL10R – PE («R&D Systems») и к IFN $\gamma$ RI - FITC («R&D Systems»). Анализировали параметры зеленой (FITC – 530 нм) и оранжевой (PE – 585 нм) флюоресценции в гейте лимфоцитарных клеток, выявляемых в режиме дот-плот. Результаты выражались в относительном и абсолютном количестве рецепторнесущих лимфоцитов.

Содержание лимфоцитов, несущих маркер проапоптотической предуготовленности (CD95+-рецептор), оценивали прямым иммунофлюоресцентным методом [Тотолян А.Н. и соавт., 2001]. Результат оценивали в относительном и абсолютном количестве светящихся клеток из 200 лимфоцитов, видимых в фазовом контрасте.

Оценку уровня спонтанного и ФГА-активированного апоптоза в общей фракции лимфоцитов проводили с использованием аннексинового теста,

основанном на факте экспрессии на поверхности клеток фосфатидилсерина. Анализ образцов клеточных суспензий проводили на проточном цитометре «Erics XL» («Beckman Coulter», Франция) [Ярилин А.А. и соавт., 2000].

Активность эксцизионной репарации ДНК лимфоцитов исследовали методом сцинтилляционной радиометрии [Дубинин Н.П., Засухина Г.Ф., 1975]. Измерение радиоактивности (имп/с) проводили на сцинтилляционном счетчике «Mark III» (США). Рассчитывали индекс стимуляции системы репарации. Результаты выражали в усл. ед.

Результаты исследования обрабатывали с использованием стандартного пакета программ Statistica for Windows (2000, версия 6.0) фирмы Statsoft Inc. и пакета программ Microsoft Excel (2003) корпорации Microsoft. Для всех имеющихся выборок данных проверяли гипотезу нормальности распределения (по критерию Колмогорова-Смирнова). Для каждой выборки вычисляли средневыборочные характеристики:  $\bar{X}$  – среднее арифметическое,  $\delta$  – среднее квадратичное отклонение,  $m$  – ошибка среднего. При соответствии нормальному закону распределения признака в исследованных выборках проверку гипотезы о равенстве средних выборочных величин проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Для оценки достоверности различий выборок, не подчиняющихся критерию нормального распределения, использовали критерии Манна-Уитни (для независимых выборок) и Вилкоксона (для зависимых выборок). Различия считались достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ . Для выявления функциональных взаимосвязей между изученными параметрами проводили корреляционный анализ путем вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена ( $r$ ) [Лакин А.В., 1980; Бронштейн И.Н., 1986; Боровиков В.В., 2001].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проблема клещевого энцефалита в настоящее время является весьма актуальной в связи с повсеместным и неуклонным ростом заболеваемости этой нейроинфекции. В последнее время клинические проявления клещевого энцефалита подверглись существенному патоморфозу. Возросла частота длительной персистенции антигена вируса клещевого энцефалита [Погодина В.В. и соавт., 1986; Исаева М.П. и соавт., 1998; Кузьяев Р. З. и соавт., 1998; Sauder C., Torre J. C., 1999; Bakhalova V.N. et al., 2000; Жукова Н.Г. и соавт., 2002; Ратникова Л.И. и соавт., 2002; Calza L., 2004].

На основе ретроспективного анализа историй болезни и амбулаторных поликлинических карт нами была проведена комплексная оценка клинических проявлений нейроинфекции у 100 пациентов в остром периоде клещевого энцефалита. Данные анамнеза, клинические проявления и результаты лабораторного исследования позволили у всех обследованных

диагностировать манифестную лихорадочную форму клещевого энцефалита средней степени тяжести. У пациентов в первые дни болезни выявляли острую антигемию вируса клещевого энцефалита. Острый период инфекции характеризовался развитием общеинфекционных симптомов и неврологических нарушений.

Полученные нами данные свидетельствуют о сопоставимости выраженности и частоты клинических проявлений начального периода нейроинфекции у пациентов как с бессимптомным носительством антигена вируса клещевого энцефалита, так и с остаточными проявлениями клещевого энцефалита.

К моменту обследования (спустя 6 мес после инфицирования) клиническая картина начального периода нейроинфекции у пациентов I группы практически редуцировалась. Однако обращало на себя внимание сохранение у обследованных жалоб, появлявшихся после эмоциональной и/или физической нагрузок, на быструю утомляемость и слабость ( $10,0 \pm 4,2\%$ ), нарушение концентрации внимания и памяти ( $14,0 \pm 4,9\%$ ), эмоциональную лабильность ( $14,0 \pm 4,9\%$ ). Кроме того,  $8,0 \pm 3,6\%$  обследованных отмечали гипотимию и тревожность, а  $6,0 \pm 3,3\%$  - головокружение и расстройство сна. Головные боли сохранялись у  $12,0 \pm 4,6\%$  лиц.

Резидуальные явления нейроинфекции у пациентов II группы характеризовались головными болями в  $74,0 \pm 6,2\%$  случаев, частота которых была достоверно ниже по сравнению с начальным периодом заболевания, но значительно выше при сопоставлении с частотой выраженности этого синдрома у пациентов I группы в отдаленном периоде ( $p < 0,05$ ). Характерными клиническими признаками длительной персистенции вируса клещевого энцефалита у пациентов II группы были симптомы, относящиеся к категории психо-астенического синдрома: быстрая утомляемость ( $68,0 \pm 6,6\%$ ), раздражительность ( $36,0 \pm 6,7\%$ ), нарушение концентрации внимания и ухудшение памяти ( $56,0 \pm 9,9\%$ ), нарушение аппетита ( $22,0 \pm 5,8\%$ ), расстройство сна ( $28,0 \pm 6,1\%$ ), головокружение ( $14,0 \pm 4,9\%$ ), слабость ( $38,0 \pm 6,8\%$ ) и эмоциональная лабильность ( $38,0 \pm 6,8\%$ ). Вместе с тем обращало на себя внимание сохранение анизорефлексии и дистального гипергидроза с сопоставимой частотой как в начальном периоде ( $46,0 \pm 7,1$  и  $20,0 \pm 5,6\%$ , соответственно), так и на момент проведения обследования ( $36,0 \pm 6,7$  и  $16,0 \pm 5,2\%$ , соответственно) во II группе обследованных.

Современный клинический облик клещевого энцефалита связан с длительным присутствием возбудителя в организме. Возможность репликации вируса клещевого энцефалита, обуславливающей клинические проявления нейроинфекции, зависит от вирулентности вируса, жизнеспособности клетки-хозяина и состояния иммунной системы макроорганизма [King, N.J. et al., 2003; Новицкий В.В., Уразова О.И., 2004; Рязанцева Н.В. и соавт., 2005].

Иммунная система является одной из основных (наряду с нервной и эндокринной) систем, участвующих в формировании стратегии функционирования организма в новых условиях. Как известно, в ответ на попадание во внутреннюю среду организма вирусных антигенов срабатывают все механизмы иммунного ответа (врожденные и приобретенные), направленные на ограничение и элиминацию инфекции. В случае же внутриклеточного проникновения вирусов ведущую роль, по общему признанию, отводят реакциям клеточного иммунитета [Семенов Б.Ф. и соавт., 1982; Кирдей Е.Г., 2000; Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2000]. Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови у пациентов с длительной антигемией вируса клещевого энцефалита отражают дефекты Т-клеточного звена иммунитета.

Снижение численности CD4<sup>+</sup>-субпопуляции у обследованных нами пациентов демонстрирует недостаточный Т-клеточный пролиферативный ответ на антигены вируса клещевого энцефалита (рис. 1). Выявленное в результате проведенного нами исследования увеличение численности цитотоксических Т-лимфоцитов, несущих поверхностные молекулы CD8 (рис. 1), у пациентов с длительной антигемией вируса клещевого энцефалита, с одной стороны, вероятно, объясняет снижение численности субпопуляции Th1-лимфоцитов. С другой стороны, активация цитотоксических лимфоцитов ввиду депрессии CD4<sup>+</sup>-клеток явно недостаточна. Кроме того, затруднение элиминации внутриклеточного инфекта посредством разрушения клеток макроорганизма может быть обусловлено инфицированностью CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов вирусом клещевого энцефалита, не способных полноценно выполнять киллерные функции [Букринская А.Г., 1986; Погодина В.В. и соавт., 1986; Ратникова Л.И. и соавт., 2002; King N.J., et al., 2003].

Следует отметить, что существующий в норме баланс показателей клеточного звена иммунитета является одним из важнейших условий поддержания эффективного иммунного ответа на внедрение вируса. Выявленное достоверное снижение относительного количества CD4<sup>+</sup>-, увеличение числа CD8<sup>+</sup>-лимфоцитов демонстрирует нарушение функционального равновесия в системе Т-клеточного ответа, обеспечивающего толерантность к вирусным антигенам [Ярилин А.А., 2004].

Как проявление адаптации макроорганизма в режиме вирусного сосуществования, вероятно, следует рассматривать обнаруженное повышение доли CD56-позитивного пула лимфоцитов у всех носителей вируса клещевого энцефалита (рис. 1). Принимая во внимание более значимое увеличение численности лимфоцитов с фенотипом CD56 у пациентов с бессимптомной антигемией вируса клещевого энцефалита, можно расценивать уровень НК-клеток как прогностический маркер выраженности клинических проявлений вирусной персистенции.

На активное вовлечение В-звена в противовирусный иммунный ответ у обследованных пациентов с длительной антигемией вируса клещевого энцефалита без клинических проявлений указывало повышение абсолютного числа CD22-позитивных лимфоцитарных клеток (рис. 1). Следует подчеркнуть, что в условиях внутриклеточной локализации инфекта гуморальное звено иммунитета не в состоянии полноценно реализовать свои протективные потенции [Фрейдлин И.С., 1999; Кирдей Е.Н., 2000]. Вместе с тем логично предположить, что активация В-клеточной компоненты иммунной защиты носит компенсаторный характер. Уменьшение доли CD22-положительного пула лимфоцитов у носителей вируса клещевого энцефалита II группы, вероятно, сопряжено со срывом адаптивных механизмов в режиме длительного пребывания вируса в макроорганизме, что клинически проявляется астеническим синдромом (рис. 1).

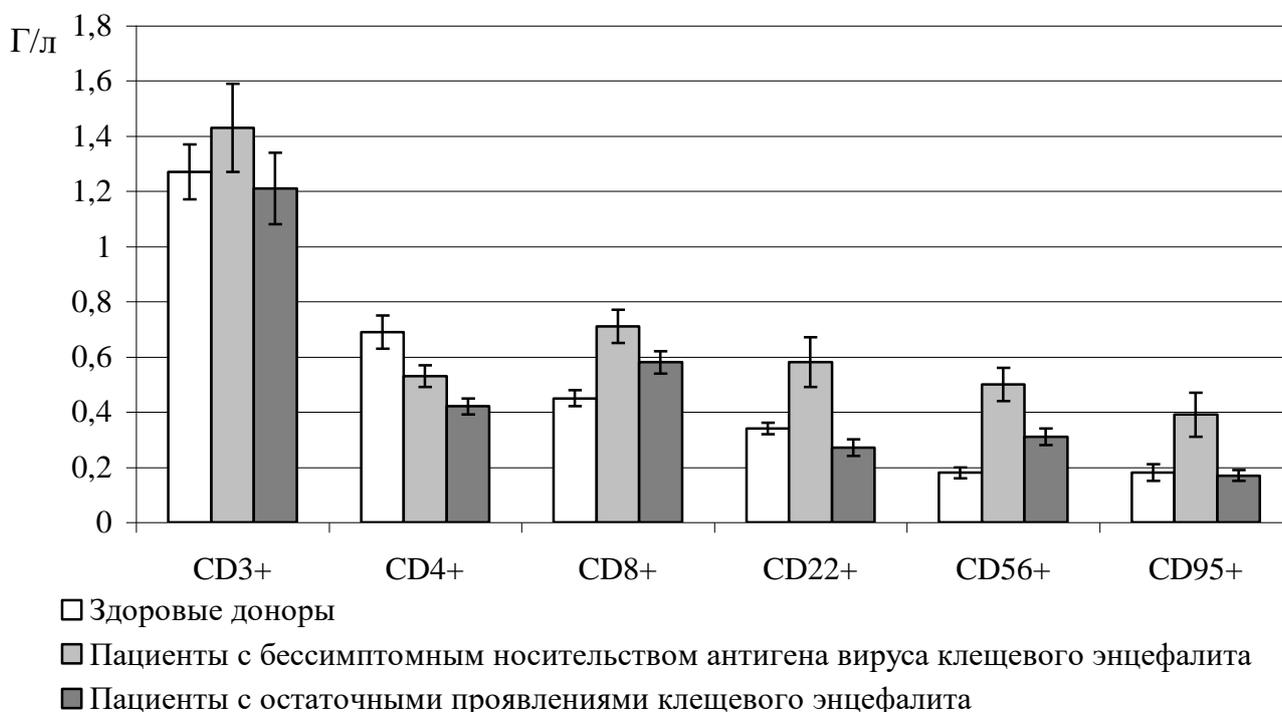


Рис.1. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у пациентов с длительной антигемией вируса клещевого энцефалита

Известно, что активация Th1-лимфоцитов, сопряженная с продукцией ключевых цитокинов  $IFN\gamma$  и IL2, усиливает клеточный иммунитет. Детерминация иммунного ответа по гуморальному типу осуществляется при доминирующем влиянии Th2-цитокинов - IL4 и IL10 [Петров Р.В., Хаитов Р.М., 2000, 2001]. Согласно современным представлениям, дисбаланс цитокинового профиля при вирусных инфекциях, а также поляризация иммунного ответа по Th1- или Th2-пути имеют решающую роль в иммунопатогенезе персистентной вирусной инфекции [Маянский А.Н. и

соавт., 1998; Хаитов Р.М., 2000; Mogensen T.H., Paludan S.R., 2001; Жукова О.Б. и соавт., 2003; Рязанцева Н.В. и соавт., 2005]. Исходя из этого, в ходе настоящего исследования нами была проведена оценка способности мононуклеаров периферической крови у пациентов с длительной персистенцией вируса клещевого энцефалита продуцировать ключевые цитокины, детерминирующие Th1- и Th2-пути иммунного ответа. В результате был выявлен выраженный дисбаланс в секреции дискриминантных цитокинов, ответственных за реализацию противовирусного иммунитета иммунокомпетентными клетками (рис. 2).

Проведенная в ходе настоящего исследования оценка способности мононуклеаров секретировать IL2 показала, что у всех обследованных пациентов с длительной персистенцией вируса клещевого энцефалита снижалась ФГА-индуцированная продукция этого интерлейкина, что демонстрирует истощение потенциала иммунокомпетентных клеток синтезировать данный провоспалительный цитокин. При этом уровень конституциональной продукции практически не отличался от нормы (рис. 2). Указанные изменения приводят, во-первых, к торможению вирусэлиминирующих событий, во-вторых, способствуют более выраженному угнетению Th1- пути иммунного ответа и, в-третьих, учитывая активационную роль IL2 в усилении пролиферации активированных В-клеток в присутствии IL4, являются причиной изменения реактивности антителопродуцирующей компоненты противовирусного иммунитета.

Действие цитокинов реализуется посредством цитокиновых рецепторов, многие из которых снабжены механизмами прямой и быстрой трансдукции сигналов. Высокоаффинные рецепторы, как правило, не экспрессируются постоянно на поверхности клетки, а появляются только в состоянии ее активации – при взаимодействии клетки с антигеном или самим цитокином [Nicola N.A., 1994; Oppenheim J., Feldman M., 2000; Хаитов Р.М., 2000; Кетлинский С.А., 2002]. Другими словами, численность иммунокомпетентных клеток, несущих на своей поверхности рецепторы к тому или иному цитокину, также оказывает влияние на изменение выраженности действия цитокина.

Нами выявлен факт повышения по сравнению со здоровыми людьми и больными с остаточными проявлениями нейроинфекции относительного и абсолютного содержания интактных, а также ФГА-стимулированных IL2R-несущих лимфоцитов у пациентов с бессимптомной персистенцией вируса клещевого энцефалита (рис. 3). В ходе проведения корреляционного анализа были установлены отрицательные функциональные связи между ФГА-стимулированной продукцией IL2 и ФГА-стимулированной экспрессией IL2R у данных пациентов ( $r=-0,79$ ;  $p<0,05$ ). Учитывая практически полное отсутствие клинических проявлений длительной антигенемии вируса клещевого энцефалита, можно предположить адаптивный характер повышения

способности лимфоцитов экспрессировать на своей поверхности рецепторы к данному плейотропному цитокину.

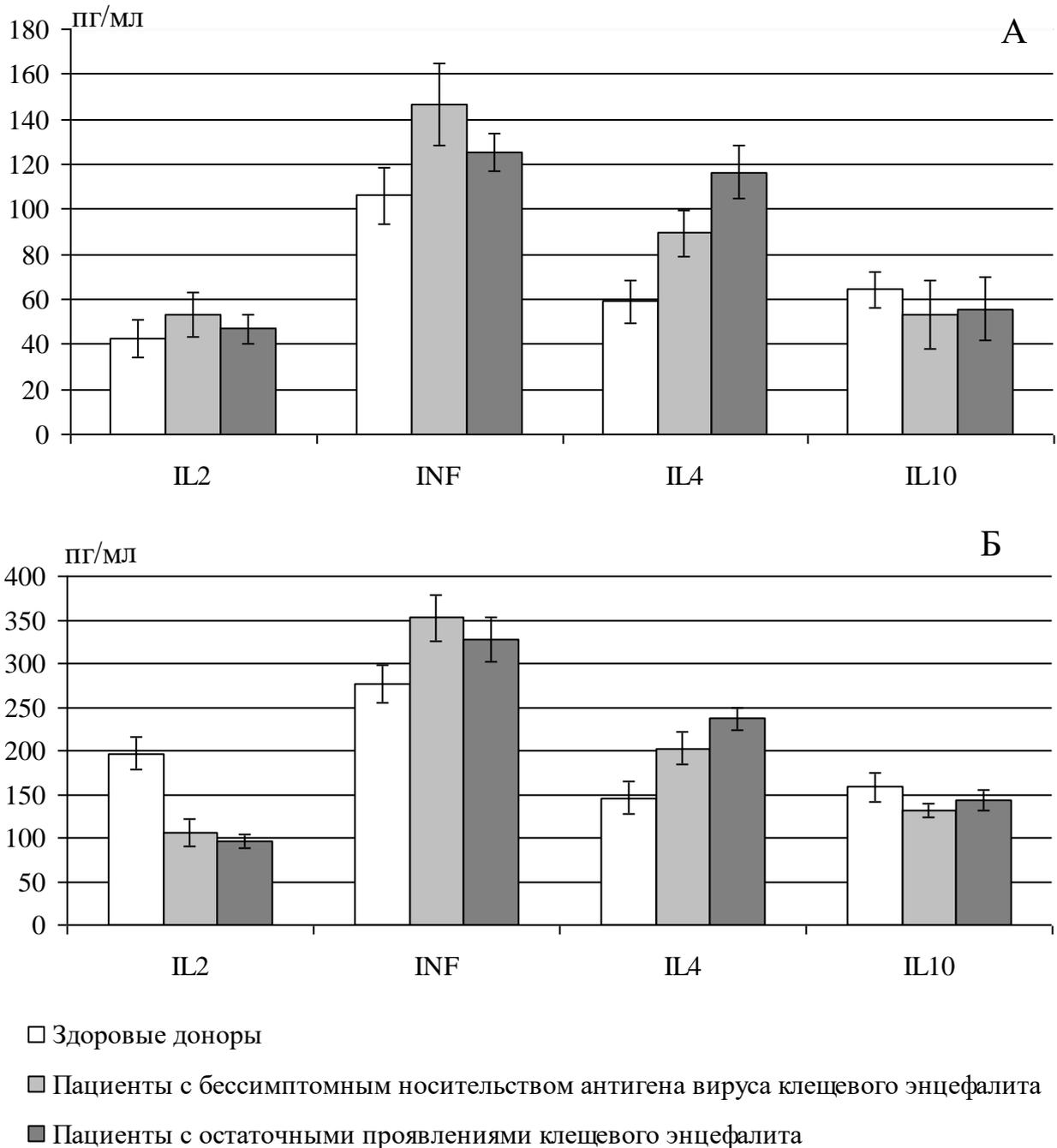


Рис.2. Спонтанная (А) и ФГА-стимулированная (Б) продукция IL2, INF $\gamma$ , IL4 и IL10 мононуклеарами периферической крови у пациентов с длительной антигемией вируса клещевого энцефалита

Доминирующую позицию среди неспецифических защитных противовирусных реакций иммунной системы занимает IFN $\gamma$  [Фрейдлин И.С., 1999; Кирдей Е.Г., 2000]. Характерным для длительной персистенции вирусных агентов является модулирование функционирования системы интерферона, осуществляющей не только первую линию защиты организма от инфекций, но и участвующей в дальнейших иммунных процессах вирусной

элиминации [Ahmed R. et al., 1996; Biron C.A., 1999; King N.J. et al., 2003]. В процессе исследования были получены результаты, демонстрирующие значительное повышение спонтанной и ФГА-стимулированной  $IFN\gamma$ -продуцирующей способности мононуклеаров у пациентов с бессимптомной персистенцией вируса клещевого энцефалита и с остаточными клиническими проявлениями клещевого энцефалита (рис. 2).

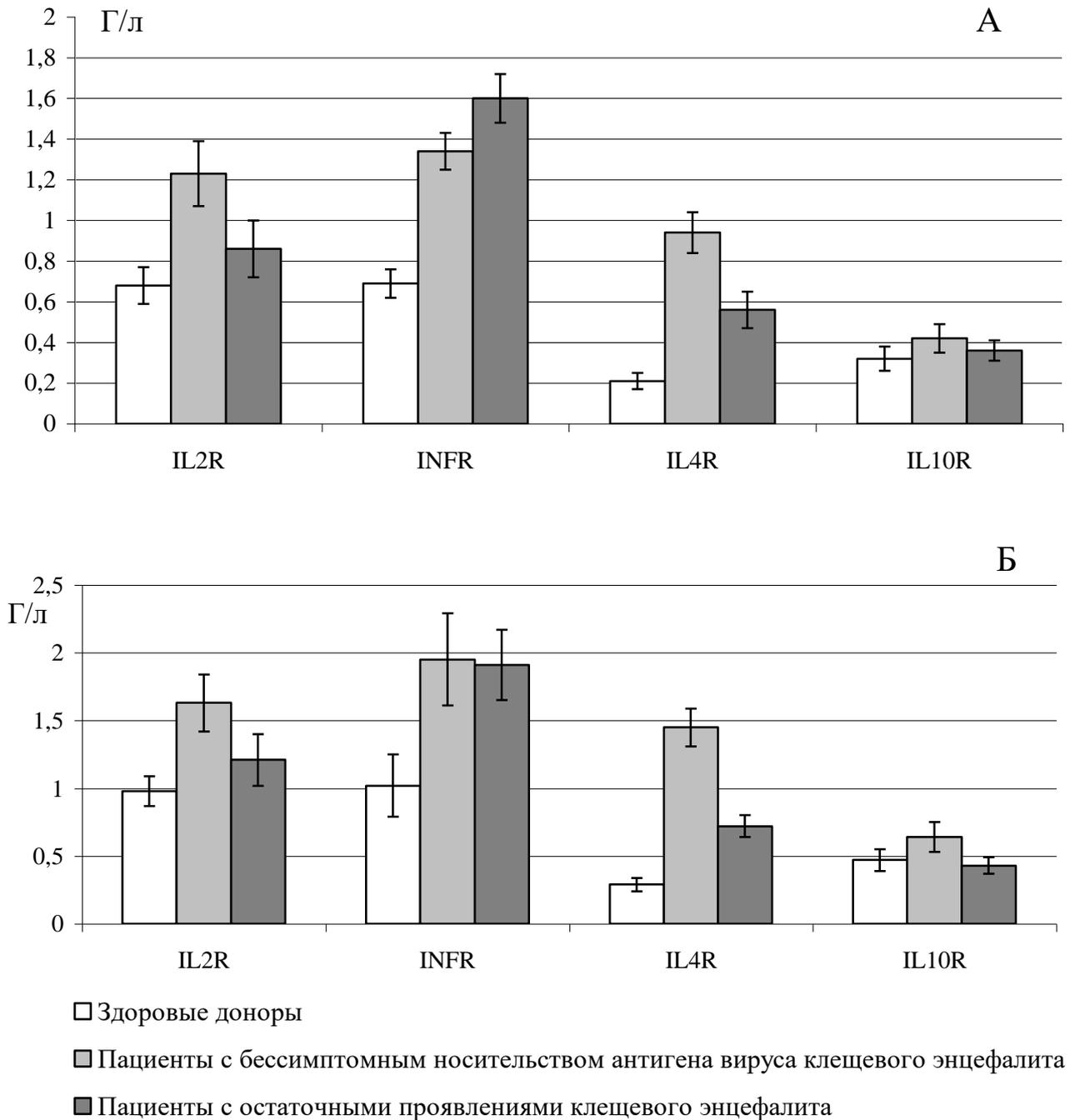


Рис. 3. Содержание лимфоцитов периферической крови, несущих рецепторы  $IL2R$ ,  $INF\gamma R$ ,  $IL4R$  и  $IL10R$ , в интактной (А) и ФГА-стимулированной (Б) культурах клеток от пациентов с длительной антигемией вируса клещевого энцефалита

Выявленные нами данные свидетельствуют о достаточно мощных резервных способностях Th1-лимфоцитов продуцировать IFN $\gamma$  и, следовательно, о сохранном противовирусном потенциале иммунокомпетентных клеток в условиях длительной персистенции. Кроме того, повышение способности мононуклеаров продуцировать IFN $\gamma$ , вероятно, следует рассматривать как универсальную компенсаторную реакцию системы иммунитета, направленную на активацию Th1-пути иммунного ответа, наиболее эффективного в реализации противовирусной защиты, но не обеспечивающего, однако, элиминацию вируса из организма [Oppenheim J., Feldman M., 2000; Samuel C.E. et al., 2001; Хаитов Р.М., 2001; Ершов Ф.И. и соавт., 2004].

Полученные при цитофлуориметрическом исследовании IFN $\gamma$ -рецепторного аппарата лимфоцитов данные демонстрируют увеличение способности как интактных, так и ФГА-стимулированных иммунокомпетентных клеток экспрессировать на поверхности IFN $\gamma$ R у пациентов с длительной антигемией вируса клещевого энцефалита (рис. 3). Нами были выявлены положительные корреляционные связи между спонтанной продукцией IFN $\gamma$  и уровнем IFN $\gamma$ R-положительных клеток у пациентов с персистенцией вируса клещевого энцефалита ( $r=0,81$ ;  $p<0,05$ ).

Функциональным антагонистом IFN $\gamma$  при воздействии на макрофаги, Т-хелперы и В-лимфоциты является дискриминантный Th2-цитокин - IL4, обладающий выраженными противовоспалительными свойствами, стимулирующий преимущественно гуморальное звено иммунитета, способствуя дифференцировке Th0 по Th2-пути иммунного ответа [Лукина Е.А., 1998; Хаитов Р.М., 2001; Фрейдлин И.С., 2001]. По данным проведенного нами исследования, было отмечено возрастание базальной и ФГА-стимулированной продукции мононуклеарами IL4 у пациентов анализируемых групп (рис. 2). Повышенная продукция IL4 способствует усилению экспрессии IL2R, которая была выявлена у обследованных носителей вируса клещевого энцефалита (рис. 3) [Фрейдлин И.С., 2001].

Установлено, что после связывания IL4 со своим рецептором интрацеллюлярно происходит цепь биохимических событий, приводящих как к активации транскрипции, причем фактор транскрипции 4PS ответственен за митогенные и апоптозпротективные свойства IL4, а STAT6 опосредует его иммуномодулирующие эффекты, так и к ингибции IFN $\gamma$ -индуцибельных генов [Кашкин К.П., 1998; Фрейдлин И.С., 2001; Dalpke A., Heeg K., 2002]. С этих позиций весьма интересен выявленный факт повышения доли IL4R-несущих клеток во всех изучаемых группах пациентов с длительной персистенцией вируса клещевого энцефалита. Однако выраженное увеличение доли IL4R+-клеток отмечалось у пациентов с бессимптомным носительством вируса клещевого энцефалита (рис. 3). Проведение корреляционного анализа

позволило выявить положительные связи между базальной продукцией IL4 и численностью IL4R<sup>+</sup>-клеток ( $r=0,68$ ;  $p<0,05$ ). Однонаправленное повышение IL4-продуцирующей и IL4-экспрессирующей способностей иммуноцитов демонстрирует превалирование Th2-пути иммунного ответа в условиях длительного присутствия вирусного агента, вероятно, вызванное постоянной активацией лимфоцитов [Носик Н.Н., 2000; Симбирцев А.С., 2004].

Синергистом IL4 в ингибирующем действии на клеточный иммунитет является IL10 [Кетлинский С.А., Калинина Н.М., 1995; Кашкин К.П., 1998; Ляшенко В.А., 2004; Сидорова Е.В., 2004]. В ходе проведенного в настоящем исследовании изучения конституциональной и индуцированной продукции IL10 иммунокомпетентными клетками нами не было зарегистрировано существенных изменений исследуемых показателей у пациентов с длительной антигенемией вируса клещевого энцефалита независимо от выраженности клинических проявлений нейроинфекции. (рис. 2). Вместе с тем уровень лимфоцитов у пациентов с длительной персистенцией вируса клещевого энцефалита, несущих на мембране рецептор к IL10, как при спонтанном, так и ФГА-индуцированном исследовании культуры клеток *in vitro* был сопоставим с нормальными значениями (рис. 3).

Полученные в проведенном нами исследовании данные свидетельствуют о выраженном дисбалансе продукции Th1- и Th2-цитокинов, вызванных неадекватной активацией Т-хелперных клонов при длительной персистенции вируса клещевого энцефалита. Выявленные изменения, с одной стороны, вероятно, являются следствием нарушения иммунологического равновесия, обеспечивающего полноценное реагирование макроорганизма на вирусную интервенцию. С другой стороны, принимая во внимание лимфотропные свойства вируса клещевого энцефалита, указанные нарушения выступают в качестве причины дизрегуляции иммунной системы посредством модуляции функциональной активности лимфоцитов на молекулярном уровне.

Особо следует отметить, что повреждающие эффекты генотоксического действия вирусного фактора на клетки макроорганизма определяются как характером и степенью выраженности вызываемых им хромосомных нарушений, так и эффективностью системы репарации, которая обеспечивает поддержание цитогенетического равновесия путем выявления и исправления ошибок, изменяющих последовательность нуклеотидов в ДНК [Cleaver J.E., 1978; Дубинин Н.П., 1982; Ильинских Н.Н. и соавт., 1991; Засухина Г.Д., Синельщикова Т.А., 1993; Копнин Б.П., 2000; Рязанцева Н.В. и соавт., 2003]. При исследовании способности лимфоцитов восстанавливать повреждения клеточного генома, вызванные ультрафиолетовым облучением, получены данные, демонстрирующие снижение способности иммунокомпетентных клеток у пациентов с длительной персистенцией вируса клещевого энцефалита независимо от выраженности клинических проявлений к эксцизионной

репарации ДНК, отражающей процесс застройки поврежденной матрицы этой молекулы. Так, индекс стимуляции системы репарации у пациентов всех обследованных групп оказался достоверно ниже аналогичного показателя в группе контроля ( $1,93 \pm 0,16$  усл.ед.): в 1,5 раза у пациентов с бессимптомной персистенцией антигена вируса клещевого энцефалита и в 1,6 раз у больных с остаточными проявлениями клещевого энцефалита. В связи с этим логично полагать, что иммунокомпетентные клетки в условиях пролонгированного пребывания вируса клещевого энцефалита обладают повышенной чувствительностью к генотоксическим воздействиям. Вероятно, угнетение активности ДНК-репарационной системы лимфоцитов у пациентов с длительной персистенцией вируса клещевого энцефалита является молекулярным механизмом, обеспечивающим как выживание, так и длительную сохранность вируса в макроорганизме.

Так или иначе, повреждающее влияние вируса клещевого энцефалита на хромосомный аппарат лимфоцитов и вирусиндуцированное угнетение репарационных процессов приводят к генетической и, как следствие, к функциональной неполноценности иммунокомпетентных клеток, отражающейся, в том числе, в изменении цитокинового репертуара. В конечном итоге это приводит к нарушению равновесия между ростовым и апоптозным потенциалом клеток [Чумаков П.М., 2000; Белушкина Н.Н., Северин С.Е., 2001; Швембергер И.Н., Гинкул Л.Б., 2002; Рязанцева Н.В. и соавт., 2004]. В этом отношении исход клещевого энцефалита, с одной стороны, связан со способностью возбудителя блокировать апоптотический потенциал инфицированной клетки, а, с другой, - обусловлен интенсивностью активации процесса физиологической гибели содержащей вирус клетки как составной части протективных механизмов макроорганизма.

Согласно современным представлениям, клетки, содержащие чужеродный генетический объект, элиминируются из макроорганизма путем цитолиза или апоптоза. Изучая степень апоптотической готовности лимфоцитов периферической крови у пациентов с длительной антигемией вируса клещевого энцефалита, нами были выявлены наиболее выраженные изменения данного показателя у носителей вируса клещевого энцефалита с практически полной клинической регрессией нейроинфекции. Этот факт проявляется в увеличении численности клеток, несущих на своей поверхности рецептор CD95. В то же время содержание клеток с данным маркером у пациентов с остаточной симптоматикой клещевого энцефалита было сопоставимо с нормой (рис. 1).

Интерпретируя данные результаты, необходимо отметить, что действие вируса на течение апоптоза неоднозначно. Инициация суицидальной программы при проникновении вируса в клетку, вероятно, является протективным механизмом, поскольку нежизнеспособная клетка не в

состоянии обеспечить репликацию вируса. Поэтому в целях самосохранения вирус стремится подавить апоптоз, сохранив при этом жизнь инфицированной клетке. Известно, что при хронизации патологического процесса происходит срыв компенсаторных механизмов регуляции в системе иммунитета и преобладание антиапоптотического потенциала вируса над защитными клеточными реакциями [Olsen C.W. et al., 1996; Ярилин А.А., 1998; Лушников Е.Ф., 2001; Hay S., Kannourakis G., 2002; Жукова О.Б. и соавт., 2005]. Таким образом, увеличение доли Fas-положительных клеток справедливо рассматривать как адекватную компенсаторную реакцию организма, направленную на элиминацию инфектогена и, как следствие, на блокирование его цитопатического действия.

Вместе с тем наличие на поверхности клетки Fas-рецептора вовсе не означает обязательной реализации клеткой заложенной программы гибели. Для этого необходимо связывание рецептора со специфическим лигандом, в качестве которого могут выступать Fas-L цитотоксических Т-лимфоцитов, НК-клеток, а также некоторые цитокины и антигены [Abastado, J.P., 1996; Невницкий Л.А., 1996; Аббасова С.Г. и соавт., 1999; Фильченко А.А. и соавт., 2002]. Исходя из этого, у пациентов с длительной персистенцией вируса клещевого энцефалита было проведено исследование интенсивности апоптотических процессов в аннексиновом тесте, результаты которого продемонстрировали увеличение численности лимфоцитов, подвергшихся спонтанному апоптозу ( $0,54 \pm 0,09$  Г/л, при норме  $0,29 \pm 0,04$  Г/л,  $p < 0,01$ ). При этом адекватного возрастания уровня активационного апоптоза не отмечалось ( $0,45 \pm 0,03$  Г/л, при норме  $0,51 \pm 0,06$  Г/л,  $p > 0,05$ ).

Снижение количества лимфоцитов, вступивших в активационный апоптоз у носителей вируса клещевого энцефалита, вероятно, является следствием нарушения естественной реализации суицидальной программы, результатом которой служит пролиферация большинства клеток, обеспечивающая пролонгацию пребывания вируса в организме. Приведенные данные свидетельствуют о блокаде программируемой клеточной гибели лимфоцитов, несмотря на высокий уровень экспрессии Fas-рецептора, что может быть вызвано вирусиндуцированным нарушением функции данного рецептора, изменением соотношения между уровнями экспрессии его мембранной и растворимой формы и Fas-L, а также модуляцией сигнальных путей [Lewis J. et al., 1996; Van Engeland M., 1998; Бойчук С.В., Мустафин И.Г., 2001; Marscher S. et al., 2002; Барышников А.Ю., 2002].

Ведя речь о выборе клеткой пути выживания или апоптотической гибели, необходимо отметить, что исход зависит от наличия проапоптотических или антиапоптотических рецепторов, а также баланса внутриклеточных посредников соответствующих сигналов. Оба эти события могут быть независимыми [Ярилин А.А., 1996; Samuilov V.D. et al., 2003].

Весьма существенно, что апоптотическая гибель может быть реализована в результате экзогенных воздействий через неспецифические для апоптоза рецепторы, активация которых может способствовать клеточной гибели. К числу таких рецепторов относятся, в частности, рецепторы для цитокинов [Утешев Д.Б. и соавт., 1998; Потапнев М.П., 2002].

В рассматриваемом аспекте проблемы логично полагать, что выявленный в настоящем исследовании выраженный дисбаланс продукции и экспрессии рецепторов цитокинов с про- (IL2, INF $\gamma$ ) и противовоспалительной (IL4, IL10) функциями в условиях длительной персистенцией вируса клещевого энцефалита может вносить существенный вклад в изменение апоптоза лимфоцитарных клеток периферической крови. Более того, известно, что клетки, подвергающиеся активационному (индуцированному) апоптозу, способны сами секретировать цитокины, способствуя, таким образом, изменению их профиля [Казначеев К.С., 1999; Chen W.J. et al., 2001; Попов Л.С., 2004].

На наш взгляд, выявленный иммунный дисбаланс в условиях пролонгированного нахождения вирусного агента в макроорганизме не представляется возможным оценивать однозначно. Характер указанных изменений является как протективным, так и цитопатическим. Однако обращает на себя внимание отсутствие параллелизма нарушений иммунологического реагирования у пациентов с различной степенью выраженности клинических проявлений длительной персистенции вируса клещевого энцефалита. В указанном аспекте представляет определенный интерес широко обсуждаемая в настоящее время структурно-функциональная взаимозависимость нервной, иммунной и эндокринной систем. Элементы диффузной нейроиммуноэндокринной системы - единой функциональной биологической системы - связаны между собой взаиморегуляцией в выполнении общей функции – поддержании гомеостаза.

Суммируя сказанное, необходимо отметить, что неврологические расстройства при нейроинфекциях возникают на стадии прогрессирующего патологического процесса как следствие вирусиндуцированных и цитокинопосредованных деструктивных изменений ЦНС и нарушения целостности гематоэнцефалического барьера. В настоящем исследовании выявлены клинические проявления длительной персистенции вируса клещевого энцефалита в виде цереброгенной астении (психо-астенического синдрома), проявлением которого у обследованных пациентов явились следующие симптомы: головная боль, головокружение, быстрая утомляемость, расстройство сна, анизорефлексия, эмоциональная лабильность, гипотимия, нарушение концентрации внимания и памяти, повышенная раздражительность, снижение аппетита, а также вегетативные расстройства в виде общего и дистального гипергидроза, красного дермографизма, колебания артериального

давления. Вероятно, выявленная клиническая симптоматика может быть сопряжена с нейроиммуномодулирующим воздействием про- и противовоспалительных цитокинов, дисбаланс продукции которых значительно выражен в условиях длительного пребывания вируса клещевого энцефалита в макроорганизме.

Таким образом, угнетение Т-клеточного звена иммунной системы, дисбаланс продукции и экспрессии рецепторов цитокинов с про- (IL2, INF $\gamma$ ) и противовоспалительными свойствами (IL4) функциями, нарушение реализации апоптоза и ДНК-репарации лимфоцитов периферической крови у пациентов с антигемией вируса клещевого энцефалита могут явиться звеньями иммунопатогенеза длительной персистенции вируса, способствующей длительному сохранению остаточных клинических проявлений клещевого энцефалита. Вместе с тем, принимая во внимание тесную взаимосвязь нервной и иммунной систем, а также учитывая нейро- и иммуотропные свойства вируса клещевого энцефалита, следует подчеркнуть, что, вероятно, звеном иммунопатогенеза клещевого энцефалита являются вирусиндуцированные изменения иммунокомпетентных клеток, что приводит к дисбалансу иммунологического равновесия, обуславливающего развитие неврологических расстройств. Поскольку взаимодействия на организменном уровне многогранны и сложны, очевидно, что комплексное влияние иммунных и нейроэндокринных элементов лежит в основе естественной синергичной протекции организма против вирусной инфекции. Продолжающееся в настоящее время изучение иммунопатогенетических особенностей клинического патоморфоза клещевого энцефалита будет служить основой для дальнейшей разработки эффективных профилактических и лечебных мероприятий.

## ВЫВОДЫ

1. Длительная антигемия вируса клещевого энцефалита (более 6 мес) характеризуется как бессимптомным течением, так и проявлениями остаточных симптомов нейроинфекции в виде психо-астенического синдрома.
2. Изменения реагирования системы иммунитета у пациентов с бессимптомным носительством антигена вируса клещевого энцефалита и с остаточными проявлениями нейроинфекции являются однонаправленными и проявляются дизрегуляцией межклеточной кооперации мононуклеарных лейкоцитов периферической крови.
3. Длительная антигемия вируса клещевого энцефалита характеризуется дисбалансом Т-клеточного звена иммунной системы, выражающимся в

повышении содержания CD8+-лимфоцитов, снижении числа CD4+-клеток и значения иммунорегуляторного индекса (CD4+/CD8+).

4. Механизмы изменения межклеточной кооперации иммунокомпетентных клеток при персистенции вируса клещевого энцефалита сопряжены с выраженным нарушением продукции мононуклеарами ключевых иммунорегуляторных цитокинов (IL2, IL4, INF $\gamma$ ) и презентации на лимфоцитах комплементарных им рецепторов (IL2R, IL4R, INF $\gamma$ R).
5. При длительной антигенемии вируса клещевого энцефалита снижена активность эксцизионной репарации ДНК и нарушена реализация апоптоза лимфоцитов периферической крови.

### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Продукция цитокинов мононуклеарными лейкоцитами при хронической персистенции вируса клещевого энцефалита // Материалы V Международного конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке», Томск, 20-21 мая 2004 г. – Томск, 2004. – С. 84-85 (в соавт. с Пироговой Н.П., Миноченко Ю.В., Лепехиным А.В., Зима А.П., Белоконь В.В., Пигузовой Е.А.).
2. Вирусиндуцированная модуляция программы апоптотической гибели клетки // Бюллетень сибирской медицины. – 2005. - № 4. – С. 32-38 (в соавт. с Чечиной О.Е., Жуковой О.Б., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Михеевым С.Л., Литваком М.М.).
3. Роль изменения экспрессии цитокинов и их рецепторов мононуклеарными лейкоцитами в условиях формирования противовирусного иммунитета // Тезисы докладов V Сибирского физиологического съезда, г. Томск, 29, 30 июня-1 июля 2005 г. / Бюллетень сибирской медицины. – 2005. – Т.4, Приложение 1. – С. 95 (в соавт. с Миноченко Ю.В., Зима А.П., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Жуковой О.Б., Чечиной О.Е., Килиной О.В., Козыревой В.С.).
4. Молекулярные и клеточные основы патогенеза клещевого энцефалита // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – Приложение 1. – С. 42-51 (в соавт. с Рязанцевой Н.В., Жуковой Н.Г., Зима А.П., Жуковой О.Б., Чечиной О.Е., Лепехиным А.В., Часовских Н.Ю., Новицким В.В.).
5. Современные клинические проявления клещевого энцефалита в Томской области // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – Приложение 1. – С. 52-56 (в соавт. с Жуковой Н.Г., Лепехиным А.В., Лукашовой Л.В., Рязанцевой Н.В., Карповой М.Р., Зима А.П., Добкиной М.Н.).
6. Закономерности нарушений межклеточной кооперации иммунокомпетентных клеток при антигенемии вируса клещевого энцефалита // Тезисы докладов Всероссийской научно-практической

конференции «Современная ситуация и перспективы борьбы с клещевыми инфекциями в XXI веке», г. Томск, 14-15 февраля 2006 г. – С. 48-49 (в соавт. Зима А.П., Жуковой Н.Г., Жуковой О.Б., Чечиной О.Е., Чернышовой Н.П., Рязанцевой Н.В.).

7. Направленность клеточной дифференцировки в условиях длительного носительства вируса клещевого энцефалита // Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции «Современная ситуация и перспективы борьбы с клещевыми инфекциями в XXI веке», г. Томск, 14-15 февраля 2006 г. – С. 96-97 (в соавт. Жуковой Н.Г., Зима А.П., Жуковой О.Б., Чечиной О.Е., Рязанцевой Н.В.).
8. Особенности апоптотической реакции лимфоцитарных клеток у пациентов с персистенцией вируса клещевого энцефалита // Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции «Современная ситуация и перспективы борьбы с клещевыми инфекциями в XXI веке», г. Томск, 14-15 февраля 2006 г. – С. 147 (в соавт. Чечиной О.Е., Жуковой О.Б., Мороз Е.А., Рязанцевой Н.В., Жуковой Н.Г.).
9. Состояние системы эксцизионной репарации ДНК лимфоцитов при персистенции вируса клещевого энцефалита // Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции «Современная ситуация и перспективы борьбы с клещевыми инфекциями в XXI веке», г. Томск, 14-15 февраля 2006 г. – С. 47 (в соавт. Жуковой О.Б., Рязанцевой Н.В., Чечиной О.Е., Жуковой Н.Г., Новицким В.В.).

### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота  
 ПЦР – полимеразная цепная реакция  
 РНК – рибонуклеиновая кислота  
 ФГА - фитогемагглютинин  
 ЦНС – центральная нервная система  
 CD – кластер дифференцировки  
 FITC - флуоресцеинизотиоцианат  
 HLA –система лейкоцитарных антигенов человека  
 PE - фикоэритрин  
 Ig - иммуноглобулин  
 IL - интерлейкин  
 INF - интерферон  
 MHC - главный комплекс гистосовместимости  
 TCR – Т-клеточный рецептор  
 Th – Т-хелпер