



ОСОБЕННОСТИ БАЗАЛЬНОЙ И ЛИПОПОЛИСАХАРИД-ИНДУЦИРОВАННОЙ СЕКРЕЦИИ ЦИТОКИНОВ В КУЛЬТУРАХ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ЭРИТЕМНОЙ ФОРМОЙ ОСТРОГО ИКСОДОВОГО КЛЕЩЕВОГО БОРРЕЛИОЗА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КЛИНИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ

Е.Н. Ильинских, О.В. Воронкова, Р.Р. Хасанова, К.В. Самойлов, А.В. Семенова, И.Е. Есимова, Е.А. Мотлохова, О.В. Ямпольская, А.В. Ямпольская

ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия

Резюме. Введение. В настоящее время остаются малоизученными особенности продукции цитокинов в культурах мононуклеарных клеток больных иксодовым клещевым боррелиозом в зависимости от клинических данных. Целью исследования являлось изучение особенностей базальной и липополисахарид-индуцированной цитокин-секреторной активности мононуклеарных лейкоцитов периферической крови больных с острым течением эритемной формы иксодового клещевого боррелиоза в зависимости от клинических параметров. **Материалы и методы.** Группы из 22 и 12 больных с диагнозами легкой или средней степени тяжести изолированной и смешанной с клещевым энцефалитом эритемной формы иксодового клещевого боррелиоза были обследованы дважды — в первую неделю болезни и в динамике через 14 дней после терапии. Контрольная группа включала 17 здоровых доноров. С помощью иммуноферментного анализа в супернатантах культур мононуклеарных лейкоцитов были исследованы базальные и липополисахарид-индуцированные уровни продукции интерлейкинов (IL)-6, IL-10 и фактора некроза опухоли (TNF)- α . Для статистического анализа использовали U-критерии Манна–Уитни, критерий Вилкоксона и ранговую корреляцию Спирмена. **Результаты.** Группа пациентов со среднетяжелым течением боррелиоза клинически отличалась более выраженными проявлениями лихорадочно-интоксикационного синдрома. В клеточных культурах больных боррелиозом со среднетяжелым течением в начале заболевания уровни базальной секреции TNF α , IL-6 и IL-10 были существенно повышены как по сравнению с пациентами с легким течением, так и со здоровыми донорами. В динамике после антибиотикотерапии уровни спонтанной секреции TNF α и IL-10 имели тенденцию к снижению. В первую неделю болезни добавление липополисахарида в культуры клеток больных со среднетяжелым течением приводило к значительному подавлению продукции

Адрес для переписки:

Ильинских Екатерина Николаевна
634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2,
ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский
университет Минздрава России.
Тел.: 8 (3822) 41-98-28. E-mail: infconf2009@mail.ru

Contacts:

Ekaterina N. Ilyinskikh
634050, Russian Federation, Tomsk, Moskovsky trakt, 2,
Siberian State Medical University.
Phone: +7 (3822) 41-98-28. E-mail: infconf2009@mail.ru

Для цитирования:

Ильинских Е.Н., Воронкова О.В., Хасанова Р.Р., Самойлов К.В., Семенова А.В., Есимова И.Е., Мотлохова Е.А., Ямпольская О.В., Ямпольская А.В. Особенности базальной и липополисахарид-индуцированной секреции цитокинов в культурах мононуклеарных лейкоцитов крови больных с эритемной формой острого иксодового клещевого боррелиоза в зависимости от клинических параметров // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 6. С. 1058–1068. doi: 10.15789/2220-7619-FOB-17538

Citation:

Ilyinskikh E.N., Voronkova O.V., Hasanova R.R., Samoylov K.V., Semenova A.V., Esimova I.E., Motlokhova E.A., Yampolskaya O.V., Yampolskaya A.V. Features of baseline and lipopolysaccharide-induced cytokine secretion in mononuclear leukocyte cultures from patients with the erythema migrans form of acute lyme borreliosis based on clinical parameters // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 6, pp. 1058–1068. doi: 10.15789/2220-7619-FOB-17538

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-20010 и средств Администрации Томской области.
The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 22-15-20010 and the Tomsk Region Administration.

TNF α и повышению секреции IL-10, как по сравнению с пациентами с легким течением, так и со здоровыми донорами. Липополисахарид-индуцированная секреция IL-6 в супернатантах культур этих больных была существенно ниже, чем у пациентов с легким течением. В динамике уровень индуцированной продукции TNF α у больных со среднетяжелым течением повышался, превосходя значения в контрольной группе. У больных выявлены прямые корреляционные зависимости между базальной секрецией IL-6 и TNF α в клеточных культурах и максимальной температурой тела или концентрацией С-реактивного белка в сыворотке крови. Уровни концентрации TNF α в пробах с липополисахаридом имели обратные зависимости от высоты лихорадки или от уровней секреции IL-10. **Выводы.** Показано, что уровни базальной секреции TNF α , IL-6 и IL-10 в клеточных культурах больных острым иксодовым клещевым боррелиозом повышались с увеличением тяжести течения заболевания. Подавление липополисахарид-индуцированной продукции TNF α в культурах клеток больных со среднетяжелым течением возможно связано с эффектами регуляторного цитокина IL-10.

Ключевые слова: иксодовый клещевой боррелиоз, эритемная форма, цитокины, липополисахарид, культура клеток крови, мононуклеарные лейкоциты, клиническое течение.

FEATURES OF BASELINE AND LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED CYTOKINE SECRETION IN MONONUCLEAR LEUKOCYTE CULTURES FROM PATIENTS WITH THE ERYTHEMA MIGRANS FORM OF ACUTE LYME BORRELIOSIS BASED ON CLINICAL PARAMETERS

Pyinskikh E.N., Voronkova O.V., Hasanova R.R., Samoylov K.V., Semenova A.V., Esimova I.E., Motlokhova E.A., Yampolskaya O.V., Yampolskaya A.V.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Abstract. Introduction. Features of cytokine production in mononuclear cell cultures from Lyme borreliosis patients based on clinical data remained poorly studied. The study aim was to estimate the patterns of baseline and lipopolysaccharide-induced cytokine-secretory activity of peripheral blood mononuclear leukocytes from patients with erythema migrans form of acute Lyme borreliosis based on clinical parameters. **Materials and methods.** Groups of 22 and 12 patients with the diagnoses of mild or moderate severity of monoinfection and co-infection with tick-borne encephalitis of Lyme borreliosis with erythema migrans were examined twice: on week 1 after disease onset and day 14. The control group included 17 healthy donors. Basal and lipopolysaccharide-induced IL-6, IL-10, and TNF α secretion levels were assessed in mononuclear leukocyte culture supernatants applying enzyme immunoassay. Statistical analysis was performed by using the Mann–Whitney U-test, Wilcoxon test, and Spearman's rank correlation. **Results.** The group of moderate severity patients was clinically distinguished by severer fever and intoxication manifestations. At the disease onset, the basal TNF α , IL-6 and IL-10 secretion levels in the moderate severity patient cultures were significantly higher than in those of the other groups. After antibiotics treatment, the baseline TNF α and IL-10 levels tended to decrease. At the onset, lipopolysaccharide-induced cultures from the moderate severity patients showed significantly suppressed TNF α production and increased IL-10 secretion as compared to the other groups. Lipopolysaccharide-induced IL-6 secretion in the moderate vs. mild severity group supernatants was significantly lower. In dynamics, the induced TNF α levels in the moderate severity patients were increased to the magnitude exceeding that in the controls. Positive correlations between the IL-6 and TNF α basal levels and maximum body temperature or the C-reactive protein serum concentrations were revealed in the patients. Induced TNF α levels showed negative correlations with fever levels or with IL-10 secretion. **Conclusions.** It was demonstrated that basal TNF α , IL-6 and IL-10 secretion levels in the mononuclear cell cultures of acute Lyme borreliosis patients increased with the increasing disease severity. Suppression of lipopolysaccharide-induced TNF α production in the moderate severity patient cultures was presumably associated with the regulatory cytokine IL-10 effects.

Key words: Lyme borreliosis, erythema migrans form, cytokines, lipopolysaccharide, blood culture, mononuclear leukocytes, clinical course.

Введение

Известно, что иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ) являются наиболее распространенными в России природно-очаговыми инфекциями с трансмиссивным механизмом передачи [8]. Хотя особенности цитокинового статуса у больных ИКБ исследуются достаточно давно, по-прежнему практически отсутствуют работы, связанные с анализом закономерностей базальной и стимулированной секреции цитокинов иммунокомпетентными клетками в условиях *in vitro*, в осо-

бенности в зависимости от клинических форм и тяжести течения заболевания [1]. Многие исследователи предполагают, что особенности врожденного иммунного ответа, направленного против боррелий, имеют существенное значение для клинического течения ИКБ в острый период заболевания, включая риск диссеминации спирохет из первичного очага в кожу во внутренние органы и нервную систему [2, 11, 17]. Как известно факторы врожденного иммунитета способствуют раннему сдерживанию распространения патогена, благодаря быстрой неспецифической воспали-

тельной реакции с участием моноцитов/макрофагов и других антигенпрезентирующих клеток (АПК) [11, 17]. Для моделирования в условиях *in vitro* пролиферации мононуклеарных клеток и продукции ими цитокинов клеточные культуры стимулируют неспецифическими поликлональными митогенами растительного или бактериального происхождения, одним из которых является липополисахарид (ЛПС). ЛПС представляет собой эндотоксин и является основным компонентом внешней мембраны грамотрицательных бактерий, стимулирующим, прежде всего, реакции врожденного иммунитета [5]. Показано, что при введении ЛПС в организме экспериментальных животных развиваются реакции острой фазы, включающие лихорадку, обусловленную пирогенными эффектами как самого ЛПС, так и провоспалительными цитокинами врожденного иммунного ответа — фактора некроза опухоли (TNF)- α , а также интерлейкинов (IL)-1 β и IL-6 [5, 14]. Кроме того, ЛПС обладает свойствами тимус-независимого антигена, поскольку он способен вызывать поликлональную активацию В-лимфоцитов и антителообразование в отсутствие хелперных клонов Т-лимфоцитов [5].

Стимуляция ЛПС первичных культур лейкоцитов периферической крови применяется для оценки в условиях *in vitro* состоятельности и напряженности факторов преимущественно врожденного иммунного ответа, а также для изучения поликлональной неспецифической пролиферации В-клеток при различных остро-воспалительных, аутоиммунных и инфекционных заболеваниях [5, 15, 24].

Целью исследования являлось изучение особенностей базальной и ЛПС-индуцированной цитокин-секреторной активности мононуклеарных лейкоцитов периферической крови больных с острым течением эритемной формы (ЭФ) ИКБ в зависимости от клинических параметров.

Материалы и методы

В исследование было включено 34 пациента, имевших диагноз острого течения моноинфекции ЭФ ИКБ или микст-инфекции ЭФ ИКБ с лихорадочной формой клещевого энцефалита (КЭ), госпитализированных в инфекционную клинику Сибирского государственного медицинского университета (СибГМУ) Минздрава России в первую неделю от начала заболевания.

В исследование включены 22 больных с моно- и микст-инфекцией ЭФ ИКБ с легкой степенью тяжести заболевания, и 12 пациентов со среднетяжелым течением болезни. Из обследованных пациентов 19 (55,88%) были мужчины и 15 (44,12%) — женщины, средний возраст которых составил $43,41 \pm 1,89$ и $48,12 \pm 1,63$ лет со-

ответственно. Для сравнения изученных параметров была обследована контрольная группа из 17 условно-здоровых добровольцев, сопоставимых с основной группой по полу и возрасту, которые не болели инфекциями, передающимися иксодовыми клещами, и имели отрицательные результаты лабораторных тестов на наличие данных заболеваний. Контрольная группа состояла из 9 (52,94%) мужчин и 8 (47,06%) женщин, средний возраст которых составил $44,44 \pm 2,39$ и $44,75 \pm 3,16$ лет соответственно.

Диагноз ЭФ острого ИКБ был поставлен в соответствии с классификацией Ю.В. Лобзина с соавт. [4]. Критериями легкого течения ИКБ являются слабая выраженность симптомов интоксикации и температура тела, не превышающая $38,0^{\circ}\text{C}$, продолжительностью до 3 дней, а для среднетяжелого течения характерны умеренные признаки интоксикации и лихорадка от $38,1$ до $39,1^{\circ}\text{C}$ [4].

Все участники настоящего исследования, проведение которого было одобрено этическим комитетом СибГМУ Минздрава России (протоколы № 9119/1 от 30.05.2022 г. и № 9349 от 23.01.2023 г.), дали письменные добровольные информированные согласия.

Критериями включения в исследование для больных ИКБ являлись поступление в стационар в срок не позднее 7 дня от начала заболевания, наличие патогномичного симптома — мигрирующей эритемы на месте присасывания клеща, клинико-эпидемиологическое и лабораторное подтверждение диагноза острого течения моноинфекции ЭФ ИКБ или микст-инфекции ЭФ ИКБ с КЭ, возраст от 20 до 55 лет, наличие информированного согласия на участие в исследовании. Критериями исключения для больных ИКБ и контрольной группы были беременность, лактация, отказ от участия в исследовании, наличие фоновой декомпенсированной соматической патологии или хронических инфекционных заболеваний (ВИЧ-инфекция, туберкулез и др.), а также вакцинаций, острых воспалительных и инфекционных заболеваний в срок менее двух месяцев до начала исследования.

Все больные ИКБ находились в стационаре под наблюдением опытных клиницистов, получили курс антибиотикотерапии (цефтриаксон) в соответствии со стандартными схемами. Клиническое обследование включало анализ 25 клинико-anamnestических и лабораторных параметров, в том числе данных о проявлениях синдромов лихорадки и интоксикации при поступлении пациента в стационар. Общий срок наблюдения за пациентами в амбулаторных условиях составил 12 мес.

Лабораторное подтверждение диагноза ИКБ проводилось методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) на основании

определения коэффициентов позитивности (КП) в динамике в день поступления пациента в стационар, на 14 и 21 день, а также через 3 и 6 мес. Все больные ЭФ ИКБ, включенные в исследование, имели положительные результаты обнаружения специфических иммуноглобулинов (Ig) классов М и G к *Borrelia burgdorferi s. l.* Подтверждение микст-инфекции проводилось на основании определения IgM и IgG к вирусу клещевого энцефалита и его антигена с использованием тест-систем АО «Вектор-Бест» (Россия). Эти же методы были применены для исключения лиц, серопозитивных по клещевым инфекциям, при формировании контрольной группы. Дополнительно в группе больных ИКБ с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) были исключены: возвратная клещевая лихорадка, вызываемая *Borrelia miyamotoi*, риккетсиозы (*Rickettsia sibirica*, *Rickettsia heilongjiangensis*), а также гранулоцитарный анаплазмоз человека и эрлихиозы (*Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia muris*, *Ehrlichia chaffeensis*) с использованием наборов серии «РеалБест» (АО «Вектор-Бест», Россия).

Материалом для исследования была периферическая венозная кровь, взятая натощак в вакуумные пробирки с гепарином в качестве антикоагулянта. У больных ЭФ ИКБ кровь бралась двукратно: в первую неделю заболевания при госпитализации пациента до начала курса антибиотикотерапии и повторно в динамике через 14 дней после лечения. Для получения культур мононуклеарных лейкоцитов пробы крови центрифугировали в градиенте плотности фикола (ООО «БиолоТ», Россия). Выделенные мононуклеарные клетки, сначала трижды отмывали и ресуспендировали, а затем культивировали в полной питательной среде на основе RPMI-1640 с L-глутамином и добавлением 10% инактивированной стерильной эмбриональной телячьей сыворотки, 10 мг/мл гентамицина, а также 10 мМ НЕРЕС (ООО «БиолоТ», Россия) в CO₂-инкубаторе HF90 (Heal Force, КНР) при 37°C и 5% концентрации CO₂ в течение 24 ч. Жизнеспособность мононуклеаров предварительно оценивали после окрашивания трипановым синим (не менее 95% клеток). Клеточные суспензии разбавляли для получения клеточной концентрации 2×10^6 /мл и культивировали без применения индуктора для изучения уровней базальной продукции цитокинов или с добавлением в качестве индуктора 10 нг/мл раствора бактериального ЛПС *Escherichia coli* (Servicebio, КНР).

Полученные аликвоты культуральных супернатантов хранили при –70°C до проведения анализа. Уровни базальной и ЛПС-индуцированной продукции TNF α , IL-6 и IL-10 определяли методом твердофазного ИФА с использованием наборов реагентов АО «Вектор-Бест» (Россия).

Для статистического анализа использовалась программа STATISTICA 12.0 (StatSoft, США) [3]. В результате проверки данных с помощью критерия Колмогорова–Смирнова было обнаружено, что значения концентрации цитокинов не соответствовали нормальному распределению. Анализ взаимосвязи между парами дискретных качественных признаков проводился с использованием точного критерия Фишера (ТКФ) [7]. Для сравнений количественных показателей в независимых группах и подгруппах применяли непараметрический метод — U-критерий Манна–Уитни [7]. Для статистического анализа параметров в связанных группах в динамике применялся критерий Вилкоксона [7]. Для оценки взаимосвязи между параметрами использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Данные были представлены как медиана (Me) и первый и третий квартили (Q₁; Q₃). Критическое значение уровня статистической значимости при проверке нулевых гипотез было равно 0,05.

Результаты

В табл. 1 приведена характеристика основных клинико-anamnestических параметров больных, имевших изолированную или микст-инфекцию ЭФ острого ИКБ с легкой и средней степенью тяжести течения заболевания.

Для того, чтобы минимизировать возможные межиндивидуальные различия [18], которые могут оказывать влияние на продукцию цитокинов в ответ на ЛПС, группы обследованных больных были сопоставимы по полу и возрасту. Все пациенты госпитализировались в сроки не позднее 7 дней после начала заболевания. Продолжительность инкубационного периода также не имела статистически значимых различий между сравниваемыми группами. У всех обследованных больных диагноз ЭФ ИКБ был подтвержден наличием мигрирующей эритемы диаметром от 5 до 32 см в месте присасывания клеща и положительными результатами качественного метода ИФА на специфические антитела класса IgM к *Borrelia burgdorferi s. l.* в начале заболевания (результаты анализа на антитела класса IgG к боррелиям в начале болезни были отрицательными), а также обнаружением специфических IgM и/или IgG в динамике. У большинства пациентов (у 32 больных или 94,12%) через 14 дней после начала курса антибиотикотерапии антитела класса IgM к *Borrelia burgdorferi s. l.* были отрицательны. Все пациенты были выписаны из стационара с выздоровлением, нормальными результатами общего и биохимического анализов крови. Результаты ИФА на специфические антитела к боррели-

ям в динамике были отрицательны. В течение срока наблюдения ни у одного из пациентов не были выявлены клинические и лабораторные признаки рецидива заболевания.

Вместе с тем обследованные группы пациентов различались по некоторым клиническим и лабораторным параметрам (табл. 2).

Больные с легким и среднетяжелым течением показали существенные различия высоты максимальной температуры тела и продолжительности лихорадки ($p < 0,001$ в обоих случа-

ях). В группе больных ЭФ ИКБ с легким течением субфебрильная лихорадка не превышала $37,6^{\circ}\text{C}$, ее продолжительность составляла от 1 до 3 дней. У 7 из 22 (31,82%) пациентов ЭФ ИКБ с легким течением температура тела оставалась в норме на протяжении всего заболевания. В то же время у всех обследованных пациентов со среднетяжелым течением была выявлена умеренно выраженная фебрильная лихорадка, варьирующая от $38,1$ до $38,9^{\circ}\text{C}$, продолжительностью не менее 4 дней.

Таблица 1. Характеристика групп пациентов с легкой и средней степенью тяжести течения эритемной формы острого иксодового клещевого боррелиоза

Table 1. Characteristics of mild or moderate severity patient groups during acute Lyme borreliosis with erythema migrans

Параметр/Parameter	Больные/Patients		p	
	Легкая степень Mild severity n = 22	Средняя степень Moderate severity n = 12		
Пол, абс. (%) Sex, abs. (%)	Мужской/Male	12(54,55)	7 (58,33)	> 0,05
	Женский/Female	10 (45,45)	5 (41,67)	> 0,05
Возраст, лет Age, years	Мужчины/Men	46,00 (37,00; 49,00)	40,00 (37,00; 50,00)	> 0,05
	Женщины/Women	51,50 (40,00; 55,00)	46,00 (41,00; 53,00)	> 0,05
Срок госпитализации, день болезни/Hospitalization, day of disease	4,50 (4,0; 6,00)	4,00 (3,00; 5,00)	> 0,05	
Инкубационный период, дни/Incubation period, days	10,50 (8,00; 15,00)	14,00 (9,00; 14,00)	> 0,05	

Примечание. p — уровень значимости различий между группами больных с легким и среднетяжелым течением.

Note. p — significance level of differences between groups of the patients with mild and moderate severity.

Таблица 2. Клинические и лабораторные параметры групп пациентов с легкой и средней степенью тяжести течения эритемной формы острого иксодового клещевого боррелиоза

Table 2. Clinical and laboratory parameters of mild and moderate severity patient groups during acute Lyme borreliosis with erythema migrans

Параметр/Parameter	Больные/Patients		p или ТКФ p or FET
	Легкая степень Mild severity n = 22	Средняя степень Moderate severity n = 12	
Максимальная температура тела, $^{\circ}\text{C}$ Maximum body temperature, $^{\circ}\text{C}$	37,30 (36,70; 37,50)	38,40 (38,20; 38,70)	< 0,001
Продолжительность лихорадки, дни Fever duration, days	2,00 (0,0; 2,00)	4,00 (4,00; 5,00)	< 0,001
Число симптомов Number symptoms	2,00 (1,00; 3,00)	5,50 (4,0; 6,50)	< 0,001
Общая слабость, абс. (%) Weakness, abs. (%)	17 (77,27)	10 (83,33)	> 0,05
Озноб, абс. (%) Chills, abs. (%)	0	7 (58,33)	< 0,001
Головная боль, абс. (%) Headache, abs. (%)	13 (59,09)	12 (100,0)	0,013
Головокружение, абс. (%) Dizziness, abs. (%)	1 (4,55)	6 (50,0)	0,004
Тошнота, абс. (%) Nausea, abs. (%)	0	4 (33,33)	0,011
Миалгии, абс. (%) Myalgia, abs. (%)	5 (22,73)	8 (66,67)	0,025
Артралгии, абс. (%) Arthralgia, abs. (%)	4 (18,18)	7 (58,33)	0,026
Жжение на месте эритемы, абс. (%) Burning in the erythema, abs. (%)	2 (9,09)	7 (58,33)	0,004
СРБ, мг/л CRP, mg/l	1,98 (1,12; 3,45)	6,00 (5,00; 7,50)	< 0,001
АЛТ, МЕ/л ALT, IU/l	21,00 (15,0; 34,00)	24,50 (23,00; 31,00)	> 0,05
АСТ, МЕ/л AST, IU/l	14,00 (10,0; 25,00)	21,00 (16,0; 26,00)	> 0,05
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ Leukocytes, $\times 10^9/\text{l}$	6,62 (5,80; 7,87)	5,35 (5,25; 6,42)	> 0,05
Нейтрофилы, % Neutrophils, %	56,45 (51,20; 64,30)	57,70 (51,50; 62,00)	> 0,05
Лимфоциты, % Lymphocytes, %	26,00 (24,90; 33,80)	28,20 (24,80; 36,00)	> 0,05
Моноциты, % Monocytes, %	10,30 (8,30; 11,30)	9,50 (7,80; 10,90)	> 0,05

Примечание. СРБ — С-реактивный белок; АЛТ и АСТ — аланин и аспартат аминотрансферазы; p — уровень значимости различий при сравнении количественных параметров между группами больных с легким и среднетяжелым течением, U-критерий Манна-Уитни; ТКФ — точный критерий Фишера, который использовался при сравнении качественных.

Note. CRP — C-reactive protein; ALT and AST — alanine and aspartate aminotransferases; p — significance level of differences comparing numerical parameters between groups of patients with mild and moderate severity, Mann-Whitney U-test; FET — Fisher's exact test while comparing categorical parameters between groups of patients with mild and moderate severity.

Кроме того, группы пациентов с легким и среднетяжелым течением ЭФ ИКБ имели существенные различия в общем числе симптомов в начале заболевания ($p < 0,001$), среди которых доминировали проявления лихорадочно-интоксикационного синдрома — озноб, головная боль, головокружение, тошнота, миалгии и артралгии. Вышеперечисленные симптомы, а также ощущение жжения/болезненности в области мигрирующей эритемы значительно чаще были выявлены в группе больных ЭФ ИКБ со среднетяжелым течением.

Из клинико-лабораторных показателей в группах больных ЭФ ИКБ с легким и среднетяжелым течением в начале заболевания были выявлены существенные различия концентраций одного из белков острой фазы — С-реактивного белка (СРБ) в сыворотке крови ($p < 0,001$). В частности, установлено, что у больных ЭФ ИКБ с легким течением этот показатель не превышал 4,0 мг/л, в то время как у пациентов со среднетяжелым течением заболевания значения СРБ варьировали от 4,0 до 7,9 мг/л, превышая референтную величину концентрации в сыворотке крови (менее 5 мг/л) у большинства больных в этой группе. Вместе с тем активность ферментов — аланин- и аспаратаминотрансфераз (АЛТ и АСТ) в сыворотке крови, а также абсолютное число лейкоцитов, относительное число нейтрофилов (NEUT), лимфоцитов (LYMPH) и моноцитов (MONO) в гемограмме не имели статистически значимых различий между группами пациентов с легким и среднетяжелым течением ($p > 0,05$ во всех случаях).

В результате статистического анализа различий уровней продукции IL-6, TNF α и IL-10 в супернатантах культур мононуклеарных лейкоцитов периферической крови, полученных в первую неделю заболевания от пациентов с изолированной и микст-инфекцией ЭФ острого ИКБ, было установлено (табл. 3), что уровни базальной секреции всех трех изученных цитокинов в группе пациентов со среднетяжелым течением заболевания были существенно выше по сравнению с соответствующими значениями как у здоровых доноров, так и у больных с легкой степенью тяжести.

Более того, у больных с легким течением заболевания уровни спонтанной продукции провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF α не имели статистически значимых различий с соответствующими значениями у здоровых доноров ($p > 0,05$ в обоих случаях), а уровни концентрации IL-10 в супернатантах клеточных культур этих пациентов были выше, чем в контроле ($p < 0,001$).

Анализ изученных параметров после курса терапии в динамике (через 14 дней) показал, что в культурах мононуклеарных лейкоцитов

больных ЭФ ИКБ средней степени тяжести при повторном исследовании уровни спонтанной продукции TNF α и IL-10 имели тенденцию к значительному снижению ($p = 0,032$ и $p = 0,024$ соответственно), а уровни секреции IL-6 оставались неизменными ($p > 0,05$).

Добавление в культуры мононуклеарных лейкоцитов периферической крови ЛПС приводило к значительному росту секреции IL-6 и IL-10 у пациентов с легким и среднетяжелым течением ЭФ ИКБ в пробах, взятых в начале болезни, по сравнению со значениями соответствующих показателей у здоровых доноров. Уровни индуцированной секреции провоспалительного цитокина — IL-6 в культурах мононуклеарных клеток больных ЭФ ИКБ средней степени тяжести были достоверно ниже, чем у больных с легким течением заболевания, а уровни концентрации регуляторного интерлейкина — IL-10, напротив, оказалась значительно выше, чем у больных с легкой степенью тяжести.

Изучение динамики ЛПС-индуцированной секреции этих цитокинов показало, что через 2 недели после начала этиотропной терапии в культурах обеих групп больных уровни IL-6 статистически значимо не изменялись, а уровни IL-10 существенно снижались только в супернатантах культур, полученных от больных с легким течением заболевания.

Добавление ЛПС в культуры мононуклеарных клеток периферической крови, полученных в начале заболевания от больных ЭФ ИКБ средней степени тяжести, приводило к существенному подавлению продукции другого провоспалительного цитокина — TNF α — как по сравнению с больными легкой формой болезни, так и по сравнению с контрольной группой, что могло свидетельствовать о снижении резервных возможностей мононуклеарных клеток в этой группе больных. Вместе с тем через 2 недели после начала терапии уровни ЛПС-индуцированной продукции TNF α и индексы стимуляции (ИС) этого цитокина в культурах мононуклеарных клеток, полученных от больных со среднетяжелым течением ЭФ ИКБ, значительно повышались в динамике. В то же время в группе больных с легким течением ЭФ ИКБ уровни ЛПС-индуцированной продукции и ИС TNF α в начале болезни были существенно выше, чем в динамике при повторном исследовании после курса терапии. Кроме того, ИС в ответ на ЛПС IL-6, TNF α и IL-10 в культурах, полученных от больных ЭФ ИКБ средней степени тяжести в начале болезни, были существенно снижены, как по сравнению с больными с легкой формой заболевания, так и по сравнению с контрольной группой.

Более того, отрицательная корреляционная связь между уровнями ЛПС-индуцированной продукции IL-10 и TNF α в культурах монону-

клеарных лейкоцитов больных ЭФ ИКБ ($r = -0,64$, $p < 0,001$), возможно, свидетельствует о том, что регуляторный цитокин IL-10 имеет отношение к подавлению ЛПС-индуцированной секреции TNF α .

Корреляционный анализ показал, что уровни базальной секреции IL-6 и TNF α в культу-

рах мононуклеарных лейкоцитов у больных ЭФ острого ИКБ в начале заболевания находились в прямой зависимости от максимальных значений температуры тела ($r = 0,73$ и $r = 0,64$, $p < 0,001$ в обоих случаях). Более того, уровни спонтанной продукции этих провоспалительных цитокинов в культурах больных ЭФ ИКБ

Таблица 3. Результаты оценки базальной и липополисахарид-индуцированной секреции цитокинов в культурах мононуклеарных клеток периферической крови пациентов с легкой и средней степенью тяжести течения эритемной формы иксодового клещевого боррелиоза в динамике, Me (Q₁; Q₃)

Table 3. Dynamic results after assessing baseline and lipopolysaccharide-induced cytokine secretion in peripheral blood mononuclear cell cultures from patients with mild and moderate acute Lyme borreliosis with erythema migrans, Me (Q₁; Q₃)

Параметр Parameter		Больные/Patients		Здоровые доноры Healthy donors n = 17
		Легкая степень Mild severity n = 22	Средняя степень Moderate severity n = 12	
IL-6	баз. I, пг/мл bas., pg/ml	257,05 (162,00; 296,90)	517,05 (331,80; 572,00) $p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,001$	199,20 (92,20; 331,40)
	баз. II, пг/мл bas., pg/ml	233,00 (106,30; 265,10)	478,90 (258,70; 553,14) $p_1 = 0,004$, $p_2 = 0,021$	
	инд. I, пг/мл ind., pg/ml	569,97 (543,20; 591,17) $p_1 < 0,001$	498,54 (486,98; 587,25) $p_1 = 0,039$, $p_2 = 0,011$	489,40 (475,80; 500,60)
	инд. II, пг/мл ind., pg/ml	555,66 (499,60; 572,81)	527,80 (524,48; 560,93)	
	ИС I ratio	2,20 (1,64; 3,54)	1,09 (0,98; 1,18) $p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,001$	2,50 (1,51; 5,40)
	ИС II ratio	1,65 (0,97; 3,09)	1,26 (0,98; 2,29) $p_1 < 0,001$	
TNF α	баз. I, пг/мл bas., pg/ml	3,95 (1,37; 7,10)	52,60 (29,70; 70,23) $p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,001$	3,29 (2,64; 10,81)
	баз. II, пг/мл bas., pg/ml	3,89 (3,03; 7,49)	15,59 (11,34; 39,25) $p_1 = 0,016$, $p_3 = 0,032$	
	инд. I, пг/мл ind., pg/ml	353,76 (262,04; 661,32) $p_1 = 0,034$	120,90 (112,93; 153,40) $p_1 = 0,022$, $p_2 = 0,001$	312,60 (202,30; 361,70)
	инд. II, пг/мл ind., pg/ml	233,30 (134,30; 532,34) $p_3 = 0,001$	615,96 (243,67; 635,94) $p_1 = 0,030$, $p_2 = 0,025$, $p_3 = 0,002$	
	ИС I ratio	74,20 (21,53; 381,63)	2,32 (1,72; 5,16) $p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,001$	96,21 (30,94; 157,54)
	ИС II ratio	32,25 (12,46; 43,85) $p_1 < 0,001$, $p_3 = 0,021$	24,99 (6,23; 40,78) $p_1 < 0,001$, $p_3 = 0,020$	
IL-10	баз. I, пг/мл bas., pg/ml	33,48 (24,11; 123,00) $p_1 < 0,001$	138,70 (84,16; 181,30) $p_1 < 0,001$, $p_2 = 0,002$	8,89 (3,06; 12,03)
	баз. II, пг/мл bas., pg/ml	20,14 (12,30; 27,00) $p_1 = 0,026$, $p_3 = 0,042$	34,50 (30,63; 67,40) $p_1 = 0,020$, $p_3 = 0,024$	
	инд. I, пг/мл ind., pg/ml	164,90 (126,80; 197,30) $p_1 < 0,001$	272,90 (153,50; 389,60) $p_1 < 0,001$, $p_2 = 0,012$	60,23 (39,02; 108,30)
	инд. II, пг/мл ind., pg/ml	129,70 (81,67; 164,30) $p_1 = 0,041$, $p_3 = 0,002$	210,40 (120,80; 234,35) $p_1 = 0,002$	
	ИС I ratio	4,72 (2,34; 9,14) $p_1 = 0,001$	1,69 (0,99; 1,82) $p_1 < 0,001$, $p_2 < 0,001$	9,05 (3,71; 25,43)
	ИС II ratio	4,99 (3,64; 21,49)	5,27 (1,17; 7,04) $p_1 < 0,001$, $p_3 = 0,007$	

Примечание. баз. — базальный уровень; инд. — индуцированный липополисахаридом уровень; ИС — индекс стимуляции; I — уровень в начале заболевания; II — уровень в динамике, через 14 дней; p_1 — уровень значимости различий при сравнении с параметрами между больными и здоровыми донорами, U-критерий Манна-Уитни; p_2 — уровень значимости различий при сравнении между группами больных с легким или среднетяжелым течением, U-критерий Манна-Уитни; p_3 — уровень значимости различий при сравнении параметров у больных в динамике в начале болезни и через 14 дней, критерий Вилкоксона.

Note. bas. — a basal level; ind. — a lipopolysaccharide-induced level; ratio — the ratio of induced to basal level; I — a level at the onset of the disease; II — a level in dynamics, 14 days later; p_1 — significance level of differences comparing parameters between patients and healthy donors, Mann-Whitney U-test; p_2 — significance level of differences comparing parameters between groups of patients with mild or moderate severity, Mann-Whitney U-test; p_3 — significance level of differences comparing parameters in patients in dynamics between I and II: at disease onset and 14 days later, Wilcoxon test.

положительно коррелировали с концентрацией СРБ в сыворотке периферической крови ($r = 0,62$ и $r = 0,66$, $p < 0,001$ в обоих случаях).

В то же время ЛПС-индуцированная секреция мононуклеарными клетками одного из основных провоспалительных цитокинов — $\text{TNF}\alpha$ в культурах, полученных от больных острым ИКБ, продемонстрировала отрицательную корреляционную связь со значениями максимальной высоты лихорадки ($r = -0,62$, $p < 0,001$). Хотя статистически значимой корреляционной зависимости между уровнями ЛПС-стимулированной секреции в культуре другого провоспалительного интерлейкина — IL-6 — и максимальной температурой тела выявить не удалось ($r = -0,19$, $p > 0,05$), но ИС продукции как IL-6 , так и $\text{TNF}\alpha$ в группе больных ИКБ также находились в обратной корреляционной связи с высотой лихорадки в первые дни заболевания ($r = -0,65$, $p < 0,001$ и $r = -0,58$, $p = 0,001$).

Обсуждение

Исследование секреции цитокинов в условиях *in vitro* позволяет получить информацию о потенциальных секреторных возможностях мононуклеарных клеток в ответ на различные стимулы, включающие антигены или митогены, которые в целом отражают изменения иммунного ответа у пациентов с изучаемой патологией [5]. Основными рецепторами распознавания врожденного иммунитета, которые взаимодействуют с патоген-специфическими молекулярными структурами, включая ЛПС, являются Toll-подобные рецепторы (TLR) [5]. Бактериальный ЛПС распознается TLR4 при участии белков MD-2 и CD14, после чего возможна активация двух сигнальных путей: один путь, опосредованный адаптерным белком — фактором миелоидной дифференцировки 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88), инициирует экспрессию генов провоспалительных цитокинов $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 и IL-12 посредством транскрипционного ядерного фактора каппа (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells, NF- κ B), а другой — MyD88-независимый путь приводит к секреции противовирусных интерферонов I типа ($\text{IFN}\alpha$ и $\text{IFN}\beta$) [14]. В результате взаимодействия с TLR-4 рецепторами бактериальный ЛПС инициирует изменения в макрофагах, моноцитах и других АПК, вызывая экспрессию генов $\text{IL-1}\beta$, IL-6 и $\text{TNF}\alpha$, индуцирует поликлональную активацию В-клеток, а также в присутствии макрофагов/моноцитов способствует выживанию и активации CD4^+ Т-лимфоцитов [5, 14].

Известно, что боррелии *Borrelia burgdorferi s. l.* не имеют ЛПС, но обладают липопroteинами — outer surface proteins (Osp) A и OspB, которые распознаются TLR2, инициируя врожден-

ный иммунный ответ, который во многом имеет сходство с эффектами ЛПС, что обусловлено универсальностью MyD88-опосредованного сигнального пути для всех TLR, за исключением TLR3, приводящего к стимуляции секреции похожего спектра провоспалительных цитокинов посредством NF- κ B [13, 14, 25].

Установлено, что в супернатантах культур мононуклеарных лейкоцитов здоровых доноров, индуцированных как ЛПС, так и антигенами живых боррелий разных видов (*B. garinii*, *B. afzelii* или *B. burgdorferi*), сходным образом уже в первые часы после стимуляции значительно повышается секреция провоспалительных цитокинов, включая $\text{TNF}\alpha$ и IL-6 , а затем — регуляторного интерлейкина IL-10 , что согласуется с полученными нами данными [16, 22].

Провоспалительные цитокины, продуцируемые макрофагами и дендритными клетками в ответ на ЛПС или липопroteины OspA и OspB, *Borrelia burgdorferi s. l.* являются эндогенными пирогенами и вызывают системную реакцию, известную как реакция острой фазы [5, 23, 25]. Установлено, что часть пациентов с острым ИКБ, включая больных с ЭФ этого заболевания, имеет повышенные концентрации СРБ — более 3 мг/л или даже более 10 мг/л в сыворотке крови [9, 23].

Известно, что в сыворотке крови больных острым ИКБ в начале заболевания существенно повышены уровни провоспалительных цитокинов IL-2 , $\text{IL-1}\beta$, IL-6 , IL-8 , $\text{TNF}\alpha$, $\text{IFN}\gamma$ и Т-клеточных хемокинов (CCL19, CXCL9, CXCL10) по сравнению со здоровыми людьми [10, 21]. Исследование M.J. Soloski с соавт. [21] позволило выделить две группы больных острым и подострым ИКБ с высокими или низкими уровнями СРБ и другими показателями острой фазы воспаления в сыворотке крови, которые отличались по тяжести течения заболевания, а также имели существенные различия уровней концентрации провоспалительных цитокинов, главным образом IL-6 , и Т-клеточных хемокинов. Пациенты с ранней локализованной или диссеминированной инфекцией ИКБ, имеющие повышенные уровни СРБ в сыворотке крови, отличались большим числом симптомов в начале заболевания, частым развитием лимфопении в гемограмме, быстрой сероконверсией и более частым повышением уровней активности печеночных ферментов в сыворотке крови [21]. Кроме того, в этой группе больных уровни концентраций IL-6 в сыворотке крови длительно сохранялись повышенными после курса антибиотикотерапии, возвращаясь к нормальным значениям спустя несколько месяцев после начала заболевания [21].

В результате настоящего исследования было показано, что уровни базальной и ЛПС-стимулированной продукции $\text{TNF}\alpha$, IL-6 и IL-10 ,

по-видимому, зависят от степени тяжести течения изолированной и смешанной инфекции ЭФ ИКБ, поскольку среди обследованных нами пациентов клинически можно было выделить группу больных, которые отличались более выраженными проявлениями лихорадочно-интоксикационного синдрома, соответствующими среднетяжелому течению болезни, повышением уровней СРБ в сыворотке крови, свидетельствующим о воспалении низкой интенсивности, а также увеличением уровней спонтанной секреции всех трех изученных цитокинов в культуре мононуклеарных клеток. Вместе с тем, нам не удалось выявить различия числа лимфоцитов в гемограмме, уровней активности АЛТ или АСТ в сыворотке крови, а также существенных различий в сероконверсии между пациентами с легким и среднетяжелым течением ЭФ ИКБ. Изменения базальной и ЛПС-индуцированной продукции TNF α , IL-6 и IL-10 после курса антибиотикотерапии, по-видимому, отражают особенности развития и динамику формирования эффективного иммунного ответа на возбудитель у больных с различной степенью тяжести течения заболевания, поскольку в период наблюдения у обследованных нами пациентов не было выявлено признаков рецидива болезни.

По данным Л.Д. Шарифуллиной с соавт. [10], показано, что пациенты с острым ИКБ, имевшие среднюю степень тяжести болезни, по сравнению с больными с легким течением продемонстрировали в начале заболевания существенно более высокие уровни провоспалительных цитокинов — TNF α , IL-18 и IL-8 в сыворотке крови с постепенным снижением их концентраций после антибиотикотерапии в динамике [10]. Уровни IL-6 в сыворотке крови также были повышены по сравнению с контролем, но не зависели от степени тяжести заболевания, а концентрации IL-10 существенно возрастали только у пациентов, имевших среднетяжелое течение [10]. В другом исследовании было показано, что у больных ЭФ острого ИКБ повышенные уровни IL-2 в сыворотке крови (концентрации TNF α и IL-6 не определялись) положительно коррелировали с высотой лихорадки [6].

Таким образом, высокие концентрации провоспалительных цитокинов в сыворотке крови или в супернатантах нестимулированных культур мононуклеарных клеток у больных острым ИКБ, по-видимому, являются косвенными показателями, отражающими более выраженную активность воспалительного процесса и проявления лихорадочно-интоксикационного синдрома.

В супернатантах культур обследованных нами больных с изолированной и смешанной инфекцией ЭФ острого ИКБ средней степени тяжести в начале заболевания было вы-

явлено существенное подавление уровней ЛПС-стимулированной продукции провоспалительных цитокинов TNF α и IL-6 при одновременном повышении секреции регуляторного цитокина IL-10. Уровни TNF α ЛПС-индуцированной секреции в этой группе пациентов имели тенденцию к повышению в динамике после курса антибиотикотерапии в период реконвалесценции.

Установлено, что у больных сепсисом, а также тяжелыми инфекциями, вызванными грамотрицательными бактериями, в частности, у пациентов с брюшным тифом, в начале заболевания ЛПС-стимулированная продукция провоспалительных цитокинов TNF α и IL-1 β в культурах лейкоцитов также была подавлена, находясь в зависимости от тяжести течения заболевания и продолжительности реконвалесценции, что авторы связывали с эффектами их антагонистов, включая регуляторный цитокин IL-10 [15, 24]. Известно, что хотя TNF α обладает рядом нежелательных системных эффектов, этот цитокин играет важную роль во врожденном иммунном ответе, являясь индуктором местного воспалительного ответа, который помогает сдерживать инфекцию, усиливая миграцию нейтрофилов и моноцитов/макрофагов, фагоцитоз бактерий и апоптоз инфицированных клеток и имеет существенное значение для эрадикации боррелий [5, 11, 12].

Не исключено, что выявленная нами обратная корреляционная связь между продукцией TNF α и IL-10 в ЛПС-индуцированных культурах мононуклеарных лейкоцитов, полученных от больных острым ИКБ в начале заболевания, подтверждает роль регуляторного цитокина IL-10 в подавлении стимулированной секреции TNF α . Известно, что IL-10 играет ключевую роль в контроле воспаления, что, прежде всего, обусловлено его способностью подавлять функции АПК, ингибировать продукцию этими клетками TNF α и IL-6, а также секрецию Th1-специфических цитокинов [19], что, по-видимому, в некоторых случаях может препятствовать развитию адекватного врожденного иммунного ответа и элиминации боррелии [11, 12, 20]. Тем не менее у обследованных нами пациентов с ЭФ ИКБ в течение срока наблюдения не было выявлено случаев рецидива заболевания. Показано, что экспрессия IL-10 жестко регулируется во избежание заболеваний, связанных с его избытком или недостатком, с помощью механизма отрицательной обратной связи [19]. Поэтому активация NF- κ B, индуцированная ЛПС или липопротеинами Osp боррелий, приводящая к экспрессии генов провоспалительных цитокинов, сопровождается стимуляцией экспрессии гена IL-10 в мононуклеарных клетках [17, 19].

Заключение

Таким образом, установлено, что в супернатантах культур мононуклеарных лейкоцитов крови больных с изолированной и микстинфекцией ЭФ острого ИКБ в начале заболевания уровни базальной секреции TNF α , IL-6 и IL-10 повышались с увеличением тяжести течения заболевания и выраженности лихорадочно-интоксикационного синдрома, по-видимому, отражая активность воспалительного процесса. Кроме того, в первую неделю болезни ЛПС-индуцированная продукция прежде всего TNF α и, в меньшей степени, IL-6 в культурах мононуклеарных лейкоцитов больных ЭФ ИКБ, имеющих среднетяжелое течение, существенно подавлялась, что, предположительно, связано с регуляторными эффектами IL-10 и, возможно, обусловлено наруше-

нием кооперативного взаимодействия иммунокомпетентных клеток при развитии реакций врожденного иммунного ответа на возбудитель. Тем не менее, поскольку стимулированная продукция TNF α восстанавливалась после курса антибиотикотерапии, а среди обследованных нами больных не было выявлено рецидивов заболевания, то изменения базальной и ЛПС-индуцированной продукции TNF α , IL-6 и IL-10, по-видимому, отражают особенности развития и динамику формирования эффективного иммунного ответа на возбудитель у больных ЭФ ИКБ с различной степенью тяжести течения заболевания.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы/References

1. Бараулина А.С., Кологринова Е.Н., Жукова О.Б., Чечина О.Е. Особенности продукции цитокинов при хронизации иксодового клещевого боррелиоза // Бюллетень сибирской медицины. 2010. Т. 9, № 1. С. 21–25. [Baraulina A.S., Kologrivova Ye.N., Zhukova O.B., Chechina O.Ye. Characteristics of production cytokines in patients with development of chronic tick-borne borreliosis. *Byulleten' sibirskoi meditsiny = Bulletin of Siberian Medicine*, 2010, vol. 9, no. 1, pp. 21–25. (In Russ.)]
2. Бондаренко А.Л., Сапожникова В.В. Анализ клинико-эпидемиологических, лабораторных показателей и цитокинового статуса у пациентов с эритемной и безэритемной формами иксодового клещевого боррелиоза // Инфекционные болезни. 2018. Т. 16, № 2. С. 34–42. [Bondarenko A.L., Sapozhnikova V.V. Analysis of clinical-epidemiological, laboratory parameters and cytokine status in patients with erythematous and non-erythematous forms of ixodes tick borreliosis. *Infektsionnye bolezni = Infectious Diseases*, 2018, vol. 16, no. 2, pp. 34–42. (In Russ.)] doi: 10.20953/1729-9225-2018-2-34-42
3. Боровиков В.П. Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA: учебное пособие для вузов. М.: Горячая линия-Телеком, 2013. 288 с. [Borovikov V.P. Popular introduction to contemporary data analysis in STATISTICA. *Moscow: Goryachaya liniya-Telekom*, 2013. 288 p. (In Russ.)]
4. Лобзин Ю.В., Усков А.Н., Козлов С.С. Лайм-боррелиоз: иксодовые клещевые боррелиозы. СПб.: Фолиант, 2000. 156 с. [Lobzin Yu.V., Uskov A.N., Kozlov S.S. Lyme borreliosis: ixodid tick-borne borreliosis. *St. Peterburg: Foliant*, 2000. 156 p. (In Russ.)]
5. Мерфи К., Уивер К. Иммунология по Джанвю. М.: Логосфера, 2020. 1184 с. [Murphy K., Weaver C. *Janeway's Immunology*. *Moscow: Logosfera*, 2020. 1184 p. (In Russ.)]
6. Мошкова Д.Ю., Авдеева М.Г. Клинико-иммунологические особенности воспалительного процесса при клещевом боррелиозе // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2016. Т. 21, № 2. С. 86–92. [Moshkova D.Yu., Avdeeva M.G. Clinical and immunological features of inflammation in Lyme borreliosis. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni = Epidemiology and Infectious Diseases*, 2016, vol. 21, no. 2, pp. 86–92. (In Russ.)] doi: 10.18821/1560-9529-2016-21-2-86-92
7. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 216 с. [Petrie A., Sabin K. *Medical statistics at a glance*. *Moscow: GEOTAR-Media*, 2015. 216 p. (In Russ.)]
8. Рудакова С.А., Теслова О.Е., Муталинова Н.Е., Пеньевская Н.А., Блох А.И., Рудаков Н.В., Савельев Д.А., Кузьменко Ю.Ф., Транквилевский Д.В. Обзор эпидемиологической ситуации по иксодовым клещевым боррелиозам в Российской Федерации в 2013–2022 гг. и прогноз на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2023. № 2. С. 75–87. [Rudakova S.A., Teslova O.E., Mutalinova N.E., Pen'evskaya N.A., Blokh A.I., Rudakov N.V., Savel'ev D.A., Kuz'menko Yu.F., Trankvilevsky D.V. Review of the epidemiological situation on ixodic tick-borne borrelioses in the Russian Federation in 2013–2022 and forecast for 2023. *Problemy osobo opasnykh infektsii = Problems of Particularly Dangerous Infections*, 2023, no. 2, pp. 75–87. (In Russ.)] doi: 10.21055/0370-1069-2023-2-75-87
9. Суздальцев А.А., Каравашкин Н.В., Кулагина А.П. Клинико-эпидемиологические аспекты иксодового клещевого боррелиоза в Самарской области // Медицинский вестник Башкортостана. 2021. Т. 16, № 3 (93). С. 27–32. [Suzdaltcev A.A., Karavashkin N.V., Kulagina A.P. Clinical and epidemiological aspects of ixodic tick-borne borreliosis in the Samara region. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Bashkortostan Medical Journal*, 2021, vol. 16, no. 3(93), pp. 27–32. (In Russ.)]
10. Шарифуллина Л.Д., Мурзабаева Р.Т., Гареев Е.М. Иммунологические особенности воспалительного процесса в остром периоде иксодовых клещевых боррелиозов // Медицинский вестник Башкортостана. 2017. Т. 12, № 5 (71). С. 69–74. [Sharifullina L.D., Murzabaeva R.T., Gareev E.M. Immunological peculiarities of the inflammatory process in the acute period of ixodic tick-borne borreliosis. *Meditsinskiy vestnik Bashkortostana = Bashkortostan Medical Journal*, 2017, vol. 12, no. 5(71), pp. 69–74. (In Russ.)]
11. Badawi A. The potential of Omics technologies in Lyme disease biomarker discovery and early detection. *Infect. Dis. Ther.*, 2017, vol. 6, no. 1, pp. 85–102. doi: 10.1007/s40121-016-0138-6
12. Bamm V.V., Ko J.T., Mainprize I.L., Sanderson V.P., Wills M.K.B. Lyme disease frontiers: reconciling borrelia biology and clinical conundrums. *Pathogens*, 2019, vol. 8, no. 4: 299. doi: 10.3390/pathogens8040299

13. Benjamin S.J., Hawley K.L., Vera-Licona P., La Vake C.J., Cervantes J.L., Ruan Y., Radolf J.D., Salazar J.C. Macrophage mediated recognition and clearance of *Borrelia burgdorferi* elicits MyD88-dependent and -independent phagosomal signals that contribute to phagocytosis and inflammation. *BMC Immunol.*, 2021, vol. 22, no. 1: 32. doi: 10.1186/s12865-021-00418-8
14. Ciesielska A., Matyjek M., Kwiatkowska K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cell Mol. Life Sci.*, 2021, vol. 78, no. 4, pp. 1233–1261. doi: 10.1007/s00018-020-03656-y
15. House D., Chinh N.T., Hien T.T., Parry C.P., Ly N.T., Diep T.S., Wain J., Dunstan S., White N.J., Dougan G., Farrar J.J. Cytokine release by lipopolysaccharide-stimulated whole blood from patients with typhoid fever. *J. Infect. Dis.*, 2002, vol. 186, no. 2, pp. 240–205. doi: 10.1086/341298
16. Janský L., Reymánová P., Kopecký J. Dynamics of cytokine production in human peripheral blood mononuclear cells stimulated by LPS or infected by *Borrelia*. *Physiol. Res.*, 2003, vol. 52, no. 6, pp. 593–598.
17. Marques A., Schwartz I., Wormser G.P., Wang Y., Hornung R.L., Demirkale C.Y., Munson P.J., Turk S.P., Williams C., Lee C.R., Yang J., Petzke M.M. Transcriptome assessment of erythema migrans skin lesions in patients with early Lyme disease reveals predominant interferon signaling. *J. Infect. Dis.*, 2017, vol. 217, no. 1, pp. 158–167. doi: 10.1093/infdis/jix563
18. Rodas L., Martínez S., Riera-Sampol A., Moir H.J., Tauler P. Blood cell in vitro cytokine production in response to lipopolysaccharide stimulation in a healthy population: effects of age, sex, and smoking. *Cells*, 2021, vol. 11, no. 1: 103. doi: 10.3390/cells11010103
19. Saraiva M., Vieira P., O'Garra A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10. *J. Exp. Med.*, 2020, vol. 217, no. 1: e20190418. doi: 10.1084/jem.20190418
20. Siebers E.M., Liedhegner E.S., Lawlor M.W., Schell R.F., Nardelli D.T. Regulatory T cells contribute to resistance against Lyme arthritis. *Infect. Immun.*, 2020, vol. 88, no. 11: e00160-20. doi: 10.1128/IAI.00160-20
21. Soloski M.J., Crowder L.A., Lahey L.J., Wagner C.A., Robinson W.H., Aucott J.N. Serum inflammatory mediators as markers of human Lyme disease activity. *PLoS One*, 2014, vol. 9, no. 4: e93243. doi: 10.1371/journal.pone.0093243
22. Stokes J.V., Moraru G.M., McIntosh C., Kummari E., Rausch K., Varela-Stokes A.S. Differentiated THP-1 cells exposed to pathogenic and nonpathogenic borrelia species demonstrate minimal differences in production of four inflammatory cytokines. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 2016, vol. 16, no. 11, pp. 691–695. doi: 10.1089/vbz.2016.2006
23. Uhde M., Ajamian M., Li X., Wormser G.P., Marques A., Alaedini A. Expression of C-reactive protein and serum amyloid a in early to late manifestations of Lyme disease. *Clin. Infect. Dis.*, 2016, vol. 63, no. 11, pp. 1399–1404. doi: 10.1093/cid/ciw599
24. Winkler M.S., Rissiek A., Priefler M., Schwedhelm E., Robbe L., Bauer A., Zahrt C., Zoellner C., Kluge S., Nierhaus A. Human leucocyte antigen (HLA-DR) gene expression is reduced in sepsis and correlates with impaired TNF α response: a diagnostic tool for immunosuppression? *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 8: e0182427. doi: 10.1371/journal.pone.0182427
25. Woitzik P., Linder S. Molecular mechanisms of *Borrelia burgdorferi* phagocytosis and intracellular processing by human macrophages. *Biology (Basel)*, 2021, vol. 10, no. 7: 567. doi: 10.3390/biology10070567

Авторы:

Ильинских Е.Н., д.м.н., доцент, профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;
Воронкова О.В., д.м.н., доцент, зав. кафедрой биологии и генетики ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;
Хасанова Р.Р., к.м.н., доцент кафедры биологии и генетики ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;
Самойлов К.В., ординатор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;
Семенова А.В., ассистент кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;
Есимова И.Е., д.м.н., доцент кафедры биологии и генетики ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;
Мотлохова, Е.А., студент ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;
Ямпольская О.В., студент ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;
Ямпольская А.В., студент ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия.

Authors:

Ilyinskikh E.N., DSc (Medicine), Associate Professor, Professor of the Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;
Voronkova O.V., DSc (Medicine), Associate Professor, Head of the Department of Biology and Genetics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;
Hasanova R.R., PhD (Medicine), Associate Professor, Department of Biology and Genetics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;
Samoylov K.V., Resident Physician, Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;
Semenova A.V., Assistant Professor, Department of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;
Esimova I.E., DSc (Medicine), Associate Professor, Department of Biology and Genetics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;
Motlokhova E.A., Student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;
Yampolskaya O.V., Student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;
Yampolskaya A.V., Student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.