

# ОЦЕНКА СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ИНДУЦИРОВАННОЙ ЛИПОПОЛИСАХАРИДОМ ЦИТОКИНСЕКРЕТОРНОЙ АКТИВНОСТИ В КУЛЬТУРАХ МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ БОЛЬНЫХ С ЛИХОРАДОЧНОЙ И МЕНИНГЕАЛЬНОЙ ФОРМАМИ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА



Е.Н. Ильинских, О.В. Воронкова, А.В. Решетова, Р.Р. Хасанова, И.Е. Есимова, Н.А. Чернышов, О.В. Ямпольская, А.В. Ямпольская, Е.М. Поломошнова, Е.В. Минакова

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

**Резюме.** *Введение.* Результаты многих исследований особенностей иммунного ответа у больных с различными клиническими формами клещевого энцефалита (КЭ) являются достаточно противоречивыми. Целью исследования было изучение особенностей изменений субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови и активности спонтанной и липополисахарид (ЛПС)-стимулированной продукции цитокинов в культурах мононуклеарных лейкоцитов у больных с лихорадочной и менингеальной формами острого КЭ. *Материалы и методы.* I и II группы соответственно включали 16 и 12 больных с лихорадочной и менингеальной формами острого КЭ, а контрольная группа — 13 здоровых доноров, у которых в первую неделю болезни в периферической крови методом проточной цитофлуориметрии были проанализированы гемограмма, абсолютное и относительное число Т-лимфоцитов, Т-хелперов/индукторов, Т-цитотоксических лимфоцитов и NK-клеток, а также дважды в динамике — при госпитализации и через 2 недели при выписке — методом иммуноферментного анализа в кондиционной среде культур мононуклеарных лейкоцитов крови была проведена оценка концентраций спонтанной и ЛПС-стимулированной секреции TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-8 и MCP-1. Для статистического анализа использовали U-критерии Манна–Уитни и критерий Вилкоксона. *Результаты.* Во II группе у больных

## 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 (служебн.).  
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 (office).  
E-mail: infconf2009@mail.ru

## Для цитирования:

Ильинских Е.Н., Воронкова О.В., Решетова А.В., Хасанова Р.Р., Есимова И.Е., Чернышов Н.А., Ямпольская О.В., Ямпольская А.В., Поломошнова Е.М., Минакова Е.В. Оценка субпопуляционного состава лимфоцитов в периферической крови и индуцированной липополисахаридом цитокинсекреторной активности в культурах мононуклеарных лейкоцитов больных с лихорадочной и менингеальной формами клещевого энцефалита // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 4. С. 690–700. doi: 10.15789/2220-7619-EPB-17647

## Citation:

Ilyinskikh E.N., Voronkova O.V., Reshetova A.V., Hasanova R.R., Esimova I.E., Chernyshov N.A., Yampolskaya O.V., Yampolskaya A.V., Polomoshnova E.M., Minakova E.V. Evaluating peripheral blood lymphocyte subset composition and lipopolysaccharide-induced cytokine secretory activity in mononuclear leukocyte cultures from patients with febrile and meningeal forms of tick-borne encephalitis // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14, no. 4, pp. 690–700. doi: 10.15789/2220-7619-EPB-17647

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-15-20010 (<https://rscf.ru/project/22-15-20010>) и средств Администрации Томской области.

The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No. 22-15-20010 (<https://rscf.ru/project/22-15-20010>) and the Tomsk Region Administration.

с клинически более тяжелой менингеальной формой КЭ уровни спонтанной и/или ЛПС-стимулированной секреции провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1 и TNF $\alpha$  были существенно ниже, а IL-8, напротив, выше, чем у пациентов с лихорадочной формой КЭ. Кроме того, у больных с менингеальной формой КЭ уровни спонтанной и/или ЛПС-индуцированной секреции IL-6 и TNF $\alpha$  не имели статистически значимых различий от контрольных значений, что также свидетельствовало о подавлении их продукции. Напротив, в I группе уровни спонтанной и/или ЛПС-индуцированной продукции IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1 и TNF $\alpha$  были значительно выше, чем в контроле. Спонтанная секреция иммуносупрессорного цитокина IL-10 у пациентов обеих групп существенно превышала таковую у здоровых лиц. Независимо от клинической формы у пациентов с КЭ в крови выявлено существенное снижение по сравнению с условно-здоровыми донорами относительного числа лимфоцитов, относительного и абсолютного числа Т-цитотоксических клеток. У больных с менингеальной формой КЭ отмечалось статистически значимое повышение числа нейтрофилов в гемограмме, снижение относительного и абсолютного количества НК-клеток по сравнению с больными с менее тяжело протекающей лихорадочной формой КЭ. **Выводы.** Развитие менингеальной формы у больных острым КЭ ассоциировано с более выраженной дисрегуляцией иммунного ответа, приводящей к дефициту НК-клеток, количественному дисбалансу субпопуляций Т-лимфоцитов, увеличению числа нейтрофилов в периферической крови и подавлению продукции провоспалительных цитокинов, ответственных за реакции врожденного иммунитета.

**Ключевые слова:** клещевой энцефалит, лихорадочная форма, менингеальная форма, цитокины, субпопуляции лимфоцитов, липополисахарид, мононуклеарные лейкоциты крови.

## EVALUATING PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTE SUBSET COMPOSITION AND LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED CYTOKINE SECRETORY ACTIVITY IN MONONUCLEAR LEUKOCYTE CULTURES FROM PATIENTS WITH FEBRILE AND MENINGEAL FORMS OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS

Ilyinskikh E.N., Voronkova O.V., Reshetova A.V., Hasanova R.R., Esimova I.E., Chernyshov N.A., Yampolskaya O.V., Yampolskaya A.V., Polomoshnova E.M., Minakova E.V.

*Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation*

**Abstract. Introduction.** Multiple studies on immune response in patients with various clinical forms of tick-borne encephalitis (TBE) have shown conflicting results. The study aim was to estimate the changes in peripheral blood lymphocyte subset counts and activity of spontaneous and lipopolysaccharide (LPS)-stimulated cytokine production in the mononuclear leukocyte cultures in patients with febrile and meningeal acute TBE. **Materials and methods.** Groups 1 and 2 included 16 and 12 patients with febrile and meningeal acute TBE, respectively. The control group included 13 healthy donors. Hemogram and T-lymphocyte, T-helper cell, T-cytotoxic and NK cell counts were analyzed by flow cytometry at week 1 of the disease as well as the spontaneous and LPS-stimulated secretion levels of TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-8, and MCP-1 were assessed by ELISA in the supernatants of mononuclear cell cultures twice: during hospitalization and two weeks later. Statistical analysis was performed by the Mann–Whitney U-test, and Wilcoxon test. **Results.** Group 2 demonstrated significant decrease in spontaneous and/or LPS-stimulated levels of proinflammatory cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1, and TNF $\alpha$ , but showed higher IL-8 level as compared with Group 1. In addition, spontaneous and/or LPS-induced levels of IL-6 and TNF $\alpha$  in Group 2 did not significantly differ from the controls, which presumably also indicated the suppression of their production. In contrast, spontaneous and/or LPS-induced levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1, and TNF $\alpha$  in Group 1 were higher than in the controls. The spontaneous IL-10 level in the patients from both groups were higher than in the controls. Peripheral blood lymphocyte and T-cytotoxic T-lymphocyte counts in both groups of TBE patients were lower than in the controls. There was significant increase in neutrophil counts, decrease in NK cell count in Group 2 as compared to the patients with a milder febrile form. **Conclusion.** Meningeal acute TBE patients was presumably associated with inadequate immune response with NK cell deficiency, T-cell dysfunction, increased neutrophil count in the peripheral blood and impaired pro-inflammatory cytokine production related to innate immune response.

**Key words:** tick-borne encephalitis, febrile form, meningeal form, cytokines, lymphocyte subpopulations, lipopolysaccharide, mononuclear blood leukocytes.

## Введение

Клещевой энцефалит (КЭ) — это самая распространенная на территории России, в особенности в Западной Сибири, природно-очаговая арбовирусная инфекционная болезнь с трансмиссивным механизмом передачи возбудителя, клинически преимущественно протекающая в виде лихорадочной формы (ЛФ), а также с воз-

можностью поражения ЦНС и развитием менингеальной или очаговой форм (МФ или ОФ) болезни [2].

Исследования закономерностей иммунного ответа у больных КЭ, которые в основном ограничены определением различных параметров цитокинового статуса в сыворотке периферической крови пациентов, проведенные различными авторами, показали противоречивые ре-

зультаты [3, 6, 7, 12, 23]. Кроме того, в литературе недостаточно информации об изменениях спонтанной и митоген-индуцированной секреции цитокинов в клеточных культурах лейкоцитов, полученных от больных КЭ в зависимости от различных клинических форм КЭ [3]. Известно, что общий иммунорегуляторный эффект цитокинов связан с их сложным сетевым взаимодействием, когда усиление секреции одних цитокинов может сопровождаться подавлением синтеза других, что во многом определяет особенности клинического течения заболевания [4].

Как известно, оценка функциональной активности иммунитета может проводиться с использованием культуральных методов, преследующих оценку продукции цитокинов и интенсивности пролиферации лимфоцитов периферической крови в ответ на стимуляцию клеток различными неспецифическими поликлональными митогенами растительного или бактериального происхождения, что в условиях *in vitro* позволяет получить информацию о реактивности клеточных факторов иммунитета у пациентов в динамике в зависимости от биологических свойств возбудителя, клинической формы и тяжести течения изучаемой патологии, включая бактериальные и вирусные инфекции, островоспалительные или аутоиммунные заболевания [4].

Одним из широко применяемых митогенов является липополисахарид (ЛПС), представляющий собой основной компонент клеточной стенки грамотрицательных бактерий, который используется для оценки в условиях *in vitro* состоятельности преимущественно факторов врожденного иммунитета [4]. Основными рецепторами распознавания ЛПС являются Toll-подобные рецепторы (TLR)4 при участии CD14, активация которых посредством транскрипционного ядерного фактора каппа (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells, NF-κB) инициирует экспрессию генов интерлейкинов (IL)-1β, IL-6, IL-12, фактора некроза опухоли (TNF)-α, а также хемокинов — хемоаттрактантного белка моноцитов (MCP)-1 (CCL2) и IL-8 (CXCL8), обладающих провоспалительными свойствами [14, 17].

Показано, что различные вирусы и их антигены по-разному взаимодействуют с мононуклеарными лейкоцитами, стимулированными ЛПС, что позволяет изучать особенности врожденного иммунного ответа при этих заболеваниях. В частности, нейраминидаза вируса гриппа усиливает ЛПС-стимулированную экспрессию NF-κB и гиперпродукцию провоспалительных цитокинов врожденного иммунного ответа, что может способствовать развитию «цитокинового шторма» и повреждению легких [19]. В то же время герпесвирусы способны устанавливать персистентную инфекцию, благодаря стратегии уклонения от иммунитета, в том числе за счет

подавления механизмов врожденного иммунного ответа [15]. Известно, что РНК вируса КЭ распознается TLR3, TLR7 и TLR8, что стимулирует экспрессию генов провоспалительных цитокинов — IL-1β и TNFα, а также секрецию интерферонов (IFN) типа I, запуская реакции врожденного иммунитета [18]. Особенности врожденного иммунного ответа на вирус КЭ изучены недостаточно, хотя предполагают, что от этого зависит клиническое течение заболевания и риск диссеминации возбудителя в ЦНС с развитием более тяжелых форм инфекции [13, 18].

Целью исследования было изучение особенностей изменений субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови и активности спонтанной и ЛПС-стимулированной продукции цитокинов в культурах мононуклеарных лейкоцитов у больных с ЛФ и МФ острого КЭ.

## Материалы и методы

В исследовании приняли участие 28 больных с ЛФ и МФ острого КЭ, госпитализированных в первую неделю болезни в инфекционную клинику Сибирского государственного медицинского университета (СибГМУ) Минздрава России. У всех пациентов диагноз среднетяжелого течения ЛФ или МФ КЭ был подтвержден данными эпидемиологического анамнеза, клинического и клинико-лабораторного обследования, включая исследование спинномозговой жидкости (СМЖ), и сформулирован в соответствии с клинической классификацией [2]. Лабораторная верификация диагноза проводилась с помощью определения коэффициентов позитивности (КП) для специфических иммуноглобулинов (Ig) классов M и G к вирусу КЭ методом иммуноферментного анализа (ИФА) в день госпитализации пациентов и через 14 дней с использованием тест-систем АО «Вектор-Бест» (Россия). Кроме того, у всех обследованных больных на основании отрицательных результатов определения специфических IgM и IgG к *Borrelia burgdorferi s.l.* в ИФА, а также ДНК *Borrelia miyamotoi* и *Anaplasma phagocytophilum* методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) (наборы АО «Вектор-Бест», Россия), были исключены иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ), возвратная клещевая лихорадка и гранулоцитарный анаплазмоз человека. Вышеперечисленные методы ИФА также были применены в контрольной группе условно-здоровых доноров для исключения лиц, сероположительных по клещевым инфекциям.

Письменное добровольное информированное согласие дали все участники исследования. Проведение исследования получило одобрение этического комитета СибГМУ Минздрава России (протоколы № 9119/1 от 30.05.2022 г. и № 9568 от 30.10.2023 г.).

Группа больных ЛФ КЭ включала 16 пациентов (7 мужчин и 9 женщин; средний возраст:  $47,0 \pm 3,2$  лет), а группа с МФ КЭ состояла из 12 пациентов (5 мужчин и 7 женщин; средний возраст:  $43,5 \pm 2,4$  лет). Контролем послужили 13 условно-здоровых доноров крови, сопоставимых с основными группами по полу и возрасту (6 мужчин и 7 женщин; средний возраст:  $46,3 \pm 2,2$  лет).

Критерии включения пациентов с КЭ в исследование: поступление в стационар в первую неделю от начала болезни, подтверждение диагнозов ЛФ или МФ острого КЭ, исключение других клещевых инфекций, возраст от 20 до 60 лет. Критериями исключения были беременность, сопутствующая инфекционная (ВИЧ-инфекция, туберкулез и др.) и/или декомпенсированная фооновая соматическая патология.

Материалом для исследования служили пробы венозной крови, которые для определения субпопуляционного состава лимфоцитов в периферической крови и лейкоцитарной формулы брали однократно при госпитализации в первые семь дней болезни, а для оценки продукции цитокинов в первичной культуре мононуклеарных клеток получали дважды — при поступлении в стационар и через 2 недели при выписке (после курса терапии).

Метод иммунофенотипирования лимфоцитов с применением флуоресцентно-меченых моноклональных антител (Elabscience, КНР) и последующим многоцветным цитометрическим анализом на проточном цитофлуориметре «Accuri C6» (BD Biosciences, США) был использован для определения абсолютного количества и относительного числа В-лимфоцитов  $CD19^+CD3^-$ , Т-лимфоцитов  $CD3^+CD19^-$ , Т-хелперов/индукторов  $CD3^+CD4^+CD45^+$ , Т-цитотоксических лимфоцитов  $CD3^+CD8^+CD45^+$  и натуральных киллеров — НК-клеток  $CD3^-CD56^+CD45^+$ .

Первичные культуры мононуклеарных лейкоцитов, выделенных из венозной крови методом градиентного центрифугирования на фиколле (ООО «БиолоТ», Россия), были получены для оценки спонтанной и ЛПС-стимулированной секреции  $TNF\alpha$ ,  $IL-1\beta$ ,  $IL-6$ ,  $IL-10$ ,  $IL-8$  и МСР-1 методом ИФА в образцах кондиционной среды с помощью наборов АО «Вектор-Бест» (Россия). Кроме того, рассчитывали индекс стимуляции (ИС) как отношение показателя интенсивности митоген-стимулированной продукции цитокина в культуральной жидкости к соответствующему спонтанному уровню. Культивирование клеток осуществляли в полной питательной среде на основе RPMI-1640 (ООО «БиолоТ», Россия) без применения митогена для оценки уровней спонтанной продукции цитокинов или после стимуляции 10 нг/мл бактериальным ЛПС *Escherichia coli* (Servicebio, КНР) в  $CO_2$ -инкубаторе HF90 (Heal Force, КНР) при  $37^\circ C$  и 5% концентрации  $CO_2$  в течение 24 ч.

Статистическую обработку результатов проводили с применением STATISTICA 12.0 (StatSoft, США). Данные были представлены как медиана (Me) и первый и третий квартили (Q1; Q3), поскольку они не подчинялись нормальному закону распределения в тесте Шапиро–Уилка. Статистический анализ различий между не связанными выборками выполняли при помощи U-критерия Манна–Уитни [5]. Для статистического анализа параметров в связанных группах в динамике применялся критерий Вилкоксона. Ранговая корреляция Спирмена была использована для корреляционного анализа. При уровне значимости  $p < 0,05$  различия двух сравниваемых величин считали статистически значимыми.

## Результаты

Установлено (табл. 1), что в начале заболевания уровни спонтанной продукции провоспалительных цитокинов  $IL-1\beta$  и  $TNF\alpha$ , а также хемокина МСР-1 (CCL2) в супернатантах культур мононуклеарных лейкоцитов, полученных от больных с ЛФ КЭ, были существенно выше, чем у больных с МФ КЭ ( $p = 0,017$ ,  $p = 0,035$ ,  $p = 0,035$ ), а также по сравнению с соответствующими показателями в группе условно-здоровых лиц ( $p = 0,009$ ,  $p = 0,018$ ,  $p < 0,001$ ). Уровни базальной продукции  $IL-6$  в культуральной жидкости мононуклеарных лейкоцитов у пациентов с ЛФ КЭ в первую неделю болезни оказались достоверно выше, чем у здоровых доноров ( $p = 0,035$ ), однако существенных различий этого показателя от группы больных с МФ обнаружено не было ( $p > 0,05$ ). Кроме того, у больных с МФ КЭ уровни спонтанной секреции мононуклеарными клетками  $IL-1\beta$ ,  $IL-6$  и  $TNF\alpha$  статистически значимо не отличались от соответствующих параметров в группе контроля ( $p > 0,05$  во всех случаях), что, по-видимому, свидетельствовало о подавлении продукции этих цитокинов в случае клинически более тяжелой формы заболевания.

Изучение спонтанной продукции этих цитокинов в супернатантах культур мононуклеарных клеток через 2 недели показало, что в группе пациентов с ЛФ КЭ уровни  $IL-1\beta$  значительно повышались ( $p = 0,005$ ), в то время как уровни  $IL-6$ ,  $TNF\alpha$  и МСР-1 не имели статистических значимых изменений в динамике, оставаясь, также как и концентрации  $IL-1\beta$ , выше соответствующих значений в контрольной группе ( $p < 0,001$  во всех случаях, кроме  $p = 0,005$  для  $TNF\alpha$ ). В группе больных МФ КЭ в динамике через 2 недели после курса терапии отмечалось существенное повышение уровней спонтанной секреции  $IL-1\beta$ ,  $TNF\alpha$  и МСР-1 ( $p = 0,025$ ,  $p = 0,012$  и  $p = 0,034$  соответственно). Кроме того, концентрации этих цитокинов в культурах больных с МФ КЭ после курса терапии превышали соответствующую

**Таблица 1. Результаты оценки спонтанной и липополисахарид-стимулированной продукции цитокинов в культуре мононуклеарных лейкоцитов периферической крови больных с лихорадочной и менингеальной формами клещевого энцефалита в начале болезни и в динамике через 2 недели, Me (Q1; Q3)**

Table 1. Assessment of spontaneous and lipopolysaccharide-stimulated cytokine production in the peripheral blood mononuclear cell cultures from patients with febrile and meningeal tick-borne encephalitis at disease onset and two weeks later, Me (Q1; Q3)

Параметр Parameter		Больные клещевым энцефалитом Patients with tick-borne encephalitis		Здоровые доноры Healthy donors n = 13
		Лихорадочная форма Febrile form n = 16	Менингеальная форма Meningeal form n = 12	
IL-1 $\beta$	сп. I, пг/мл sp. I, pg/ml	106,4 (23,4; 314,9) $p_1 = 0,009$	11,4 (2,29; 51,3) $p_2 = 0,017$	20,5 (9,6; 25,0)
	сп. II, пг/мл sp. II, pg/ml	322,9 (294,3; 334,0) $p_1 < 0,001; p_3 = 0,005$	25,4 (6,50; 281,8) $p_1 = 0,044; p_2 < 0,001; p_3 = 0,025$	
	ст. I, пг/мл st. I, pg/ml	349,5 (343,5; 368,3) $p_1 < 0,001$	353,9 (340,9; 368,4) $p_1 < 0,001$	165,0 (110,0; 230,0)
	ст. II, пг/мл st. II, pg/ml	357,6 (348,4; 369,6) $p_1 < 0,001$	350,5 (340,6; 378,5) $p_1 < 0,001$	
	ИС I ratio I	4,80 (1,17; 14,8)	29,9 (1,15; 84,1) $p_1 = 0,009; p_2 = 0,007$	7,92 (6,11; 10,00)
	ИС II ratio II	1,12 (1,06; 1,27) $p_1 < 0,001; p_3 = 0,005$	14,3 (1,31; 59,2) $p_1 = 0,001; p_2 < 0,001$	
IL-6	сп. I, пг/мл sp. I, pg/ml	298,0 (278,6; 436,9) $p_1 = 0,035$	366,2 (102,3; 407,5)	220,2 (92,2; 353,2)
	сп. II, пг/мл sp. II, pg/ml	570,9 (348,7; 573,7) $p_1 < 0,001$	170,1 (154,3; 270,2) $p_2 < 0,001$	
	ст. I, пг/мл st. I, pg/ml	570,8 (563,0; 574,6) $p_1 < 0,001$	501,4 (485,8; 504,2) $p_2 < 0,001$	500,4 (495,8; 501,1)
	ст. II, пг/мл st. II, pg/ml	574,7 (564,3; 586,6) $p_1 = 0,001$	495,0 (492,9; 495,7) $p_2 < 0,001$	
	ИС I ratio I	1,90 (1,44; 2,03)	1,32 (1,23; 4,95) $p_1 = 0,045; p_2 < 0,001$	2,25 (1,42; 5,43)
	ИС II ratio II	1,02 (0,99; 2,75) $p_1 = 0,043$	1,84 (1,63; 2,91)	
IL-8	сп. I, пг/мл sp. I, pg/ml	180,6 (119,9; 207,7)	351,3 (287,5; 420,4) $p_1 < 0,001; p_2 < 0,001$	78,1 (58,6; 344,9)
	сп. II, пг/мл sp. II, pg/ml	154,8 (94,4; 178,7) $p_3 = 0,009$	403,6 (375,8; 430,3) $p_1 < 0,001; p_2 < 0,001$	
	ст. I, пг/мл st. I, pg/ml	199,3 (186,9; 213,0) $p_1 < 0,001$	447,7 (415,0; 449,5) $p_2 < 0,001$	450,7 (445,0; 453,3)
	ст. II, пг/мл st. II, pg/ml	189,0 (180,5; 201,1) $p_1 < 0,001$	446,0 (444,0; 447,90) $p_2 < 0,001$	
	ИС I ratio I	1,78 (0,93; 1,87) $p_1 < 0,001$	1,28 (1,06; 1,79) $p_1 < 0,001$	5,78 (1,31; 7,59)
	ИС II ratio II	1,15 (1,03; 6,64) $p_3 = 0,002$	1,11 (1,03; 1,17) $p_1 = 0,002; p_3 = 0,005$	
MCP-1	сп. I, пг/мл sp. I, pg/ml	3519,0 (680,4; 4532,0) $p_1 < 0,001$	761,5 (159,5; 2534,0) $p_1 < 0,001; p_2 = 0,035$	213,1 (118,1; 1520,3)
	сп. II, пг/мл sp. II, pg/ml	3430,0 (2412,0; 5150,0) $p_1 < 0,001$	1057,0 (257,1; 3849,0) $p_1 < 0,001; p_3 = 0,034$	
	ст. I, пг/мл st. I, pg/ml	4470,5 (2448,0; 4687,0) $p_1 < 0,001$	2757,0 (880,5; 3907,0) $p_1 < 0,001; p_2 = 0,040$	1104,4 (328,9; 1453,7)
	ст. II, пг/мл st. II, pg/ml	1870,5 (1658,0; 2034,0) $p_1 < 0,001; p_3 = 0,002$	2130,5 (1639,0; 3129,0) $p_1 < 0,001$	
	ИС I ratio I	1,24 (0,64; 6,31) $p_1 < 0,001$	3,38 (0,45; 18,2)	9,20 (4,43; 17,2)
	ИС II ratio II	0,59 (0,32; 0,72) $p_1 < 0,001$	2,15 (0,43; 18,1) $p_2 < 0,001$	

Параметр Parameter		Больные клещевым энцефалитом Patients with tick-borne encephalitis		Здоровые доноры Healthy donors n = 13
		Лихорадочная форма Febrile form n = 16	Менингеальная форма Meningeal form n = 12	
TNF $\alpha$	сп. I, пг/мл sp. I, pg/ml	20,1 (5,12; 40,8) $p_1 = 0,018$	11,1 (3,36; 11,9) $p_2 = 0,035$	3,31 (2,15; 12,5)
	сп. II, пг/мл sp. II, pg/ml	20,0 (13,6; 45,9) $p_1 = 0,005$	49,6 (38,5; 50,9) $p_1 < 0,001; p_2 = 0,025; p_3 = 0,012$	
	ст. I, пг/мл st. I, pg/ml	614,3 (591,9; 624,7) $p_1 < 0,001$	345,3 (330,1; 351,2) $p_2 < 0,001$	334,4 (323,8; 335,4)
	ст. II, пг/мл st. II, pg/ml	620,4 (587,3; 663,8) $p_1 < 0,001$	338,6 (330,1; 345,4) $p_2 < 0,001$	
	ИС I ratio I	67,8 (27,1; 123,2)	29,7 (29,6; 96,5) $p_1 = 0,023$	95,2 (16,4; 150,7)
	ИС II ratio II	34,2 (18,0; 48,9) $p_1 < 0,001; p_3 = 0,009$	6,83 (6,42; 8,67) $p_1 < 0,001; p_2 < 0,001; p_3 = 0,013$	
IL-10	сп. I, пг/мл sp. I, pg/ml	41,2 (22,9; 75,7) $p_1 = 0,014$	28,5 (12,9; 53,7) $p_1 = 0,015$	9,36 (2,45; 12,7)
	сп. II, пг/мл sp. II, pg/ml	66,0 (30,9; 95,9) $p_1 < 0,001$	12,3 (7,51; 15,1) $p_2 < 0,001; p_3 = 0,012$	
	ст. I, пг/мл st. I, pg/ml	128,2 (67,9; 229,7) $p_1 = 0,043$	112,2 (96,5; 135,0)	63,8 (43,5; 111,4)
	ст. II, пг/мл st. II, pg/ml	153,3 (53,1; 248,0) $p_1 = 0,031$	143,2 (140,1; 149,8) $p_1 = 0,018$	
	ИС I ratio I	2,22 (1,67; 12,0) $p_1 = 0,019$	7,49 (2,51; 10,4)	8,81 (3,62; 23,1)
	ИС II ratio II	2,10 (1,71; 2,58)	11,6 (9,4; 37,5) $p_2 < 0,001$	

**Примечание.** сп. — спонтанный уровень; ст. — стимулированный липополисахаридом уровень; ИС — индекс стимуляции;  $p_1$  — уровень значимости различий при сравнении параметров между больными и здоровыми донорами, U-критерий Манна-Уитни;  $p_2$  — уровень значимости различий при сравнении параметров между больными с лихорадочной и менингеальной формами клещевого энцефалита, U-критерий Манна-Уитни;  $p_3$  — уровень значимости различий при сравнении параметров у больных в динамике в начале болезни и через 2 недели, критерий Вилкоксона.  
Note. sp. — spontaneous level; st. — lipopolysaccharide-stimulated level; ratio — stimulated to basal level ratio;  $p_1$  — a significance level for differences while comparing parameters between patients and healthy donors, Mann-Whitney U-test;  $p_2$  — a significance level for differences while comparing parameters between patients with febrile and meningeal tick-borne encephalitis, Mann-Whitney U-test;  $p_3$  — a significance level for differences while comparing parameters in patients at disease onset and two weeks later, Wilcoxon test.

щие значения у условно-здоровых лиц ( $p = 0,044$ ,  $p < 0,001$  и  $p < 0,001$  для IL-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и MCP-1 соответственно).

Вместе с тем в начале заболевания и через 2 недели в динамике уровни спонтанной продукции хемокина IL-8 (CXCL8), который вызывает активацию и дегрануляцию нейтрофилов, в супернатантах культур мононуклеарных клеток больных с МФ КЭ, в отличие от других провоспалительных цитокинов, оказались существенно выше, чем у больных с ЛФ КЭ и в контрольной группе ( $p < 0,001$  во всех случаях).

Кроме того, в начале болезни у больных с ЛФ и МФ КЭ уровни спонтанной секреции иммуносупрессорного цитокина IL-10 были существенно выше, чем в контрольной группе ( $p = 0,014$  и  $p = 0,015$ ). Через 2 недели у больных ЛФ КЭ уровни продукции этого цитокина по-прежнему оставались повышенными по сравнению с контролем ( $p < 0,001$ ), а у больных с МФ КЭ, напротив, были существенно ниже, чем у больных с ЛФ КЭ ( $p < 0,001$ ), снижаясь в динамике ( $p = 0,012$ ) до уровней, сопоставимых с значениями в группе условно-здоровых лиц ( $p > 0,05$ ).

Стимуляция культур мононуклеарных лейкоцитов ЛПС у больных МФ КЭ в первую неделю заболевания приводила к существенному подавлению уровней секреции таких провоспалительных цитокинов врожденного иммунного ответа, как IL-6, MCP-1 и TNF $\alpha$  по сравнению с уровнями соответствующих параметров у пациентов с ЛФ КЭ ( $p < 0,001$  во всех случаях, кроме  $p = 0,040$  для MCP-1), что в отношении ЛПС-индуцированной продукции IL-6 и TNF $\alpha$  сохранялось неизменным в динамике и через 2 недели ( $p < 0,001$  во всех случаях). Кроме того, у больных с МФ КЭ уровни ЛПС-стимулированной секреции IL-6 и TNF $\alpha$  не имели статистически значимых различий от контрольных значений, что также свидетельствовало о подавлении их продукции ( $p > 0,05$ ). Вместе с тем в начале заболевания и в динамике после курса терапии в культурах мононуклеарных лейкоцитов группы пациентов с ЛФ КЭ уровни ЛПС-индуцированной продукции IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, MCP-1 и TNF $\alpha$  были значительно выше, чем в контроле ( $p < 0,001$  во всех случаях для IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1 и TNF $\alpha$ ;  $p = 0,043$ ,  $p = 0,031$  для IL-10 соответ-

ственно). Напротив, ЛПС-индуцированная секреция IL-8 в клеточных культурах у пациентов с ЛФ КЭ была значительно подавлена по сравнению с больными МФ КЭ и контролем ( $p < 0,001$  во всех случаях), а в группе пациентов с МФ не имела существенных отличий от условно-здоровых лиц ( $p > 0,05$ ).

Кроме того, в группе пациентов с МФ КЭ в начале заболевания индексы стимуляции (ИС) для IL-8 ( $p < 0,001$ ), IL-6 ( $p = 0,045$ ) и TNF $\alpha$  ( $p = 0,023$ ) были существенно ниже, а ИС MCP-1 не имел существенных различий ( $p > 0,05$ ) от соответствующих параметров у условно-здоровых

лиц, что, по-видимому, отражало угнетение продукции этих цитокинов в культурах мононуклеарных лейкоцитов у больных КЭ с менингеальным синдромом.

В табл. 2 приведены результаты оценки субпопуляционного состава лимфоцитов в периферической крови больных с ЛФ и МФ КЭ в первую неделю заболевания. Наряду с этим показано, что больные с МФ КЭ по сравнению с ЛФ и с контрольной группой имели существенно более высокие значения общего количества лейкоцитов крови ( $p = 0,008$  и  $p = 0,006$ ), главным образом за счет повышения относительного и абсолют-

**Таблица 2. Результаты оценки субпопуляционного состава лимфоцитов в периферической крови больных с лихорадочной и менингеальной формами клещевого энцефалита, Me (Q1; Q3)**

Table 2. Assessment of peripheral blood lymphocyte subset composition in patients with febrile and meningeal tick-borne encephalitis, Me (Q1; Q3)

Параметр Parameter	Больные клещевым энцефалитом Patients with tick-borne encephalitis		Здоровые доноры Healthy donors n = 13
	Лихорадочная форма Febrile form n = 16	Менингеальная форма Meningeal form n = 12	
WBC, $\times 10^9/L$	5,85 (4,82; 6,04)	10,3 (7,00; 12,3) $p_1 = 0,008; p_2 = 0,006$	5,76 (4,32; 5,90)
NEUT, %	56,70 (49,90; 64,15)	70,70 (63,70; 77,20) $p_1 < 0,001; p_2 = 0,012$	51,40 (47,50; 55,40)
NEUT, $\times 10^9/L$	3,21 (3,17; 4,44)	5,49 (3,20; 5,63) $p_1 < 0,001; p_2 = 0,026$	2,83 (2,11; 3,51)
LYMP, %	22,8 (15,5; 25,3) $p_1 = 0,003$	22,5 (17,1; 28,9) $p_1 = 0,025$	36,0 (32,0; 37,0)
LYMP, $\times 10^9/L$	1,38 (1,18; 1,44) $p_1 = 0,031$	2,03 (0,98; 2,40)	2,08 (1,45; 2,18)
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>-</sup> , %	66,8 (53,5; 79,7) $p_1 = 0,021$	73,8 (67,5; 86,1)	80,3 (78,2; 82,0)
CD3 <sup>+</sup> CD19 <sup>-</sup> , $\times 10^9/L$	0,94 (0,29; 1,09) $p_1 = 0,035$	1,33 (0,75; 1,96)	1,70 (1,09; 1,71)
CD19 <sup>+</sup> CD3 <sup>-</sup> , %	2,90 (1,50; 12,7)	9,75 (7,59; 15,68)	9,07 (8,97; 9,80)
CD19 <sup>+</sup> CD3 <sup>-</sup> , $\times 10^9/L$	0,07 (0,01; 0,17)	0,22 (0,09; 0,31) $p_2 = 0,030$	0,16 (0,14; 0,19)
CD3 <sup>-</sup> CD56 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup> , %	17,4 (16,1; 45,0) $p_1 < 0,001$	11,4 (8,0; 20,9) $p_2 = 0,026$	11,0 (8,98; 12,9)
CD3 <sup>-</sup> CD56 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup> , $10^9/L$	0,25 (0,23; 0,28)	0,16 (0,10; 0,18) $p_1 = 0,003; p_2 = 0,003$	0,21 (0,19; 0,26)
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup> , %	21,1 (17,2; 23,1) $p_1 = 0,004$	17,4 (11,3; 22,5) $p_1 = 0,002$	31,0 (29,9; 32,1)
CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup> , $\times 10^9/L$	0,27 (0,09; 0,34) $p_1 < 0,001$	0,30 (0,15; 0,42) $p_1 < 0,001$	0,62 (0,47; 0,70)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup> , %	49,5 (36,2; 58,5)	58,2 (46,5; 69,1)	49,3 (47,3; 51,1)
CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> CD45 <sup>+</sup> , $10^9/L$	0,68 (0,20; 0,82)	0,92 (0,52; 1,44)	1,01 (0,66; 1,08)
ИС ratio	2,77 (2,10; 2,85)	3,27 (1,81; 4,25)	1,59 (1,54; 1,70)

**Примечание.** WBC — лейкоциты; NEUT — нейтрофилы; LYMP — лимфоциты; CD3<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup> — Т-лимфоциты; CD19<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup> — В-лимфоциты; CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> — NK-клетки; CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> — Т-хелперы/индукторы; CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> — Т-цитотоксические лимфоциты; ИС — индекс соотношения (Т-хелперов к Т-цитотоксическим лимфоцитам);  $p_1$  — уровень значимости различий при сравнении с параметрами между больными и здоровыми донорами, U-критерий Манна-Уитни;  $p_2$  — уровень значимости различий при сравнении с параметрами между больными с лихорадочной и менингеальной формами клещевого энцефалита, U-критерий Манна-Уитни.

Note. WBC — leukocytes; NEUT — neutrophils; LYMP — lymphocytes; CD3<sup>+</sup>CD19<sup>-</sup> — T lymphocytes; CD19<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup> — B lymphocytes; CD3<sup>-</sup>CD56<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> — NK cells; CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> — T helper/inducer cells; CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>CD45<sup>+</sup> — T-cytotoxic lymphocytes; ratio — T-helper to T-cytotoxic cells ratio;  $p_1$  — a significance level for differences while comparing parameters between patients and healthy donors, Mann-Whitney U-test;  $p_2$  — a significance level for differences while comparing parameters between patients with febrile and meningeal tick-borne encephalitis, Mann-Whitney U-test.

ного числа нейтрофилов ( $p = 0,012$ ,  $p = 0,026$ ,  $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ) в гемограмме. В периферической крови обеих групп пациентов с КЭ по сравнению с условно-здоровыми донорами было выявлено существенное снижение относительного числа лимфоцитов ( $p = 0,003$  и  $p = 0,025$ ), а в группе больных с ЛФ КЭ было обнаружено уменьшение абсолютного количества этих клеток ( $p = 0,031$ ), что, по-видимому, прежде всего было обусловлено значительно более низкими уровнями относительного и абсолютного числа Т-цитотоксических  $CD3^+CD8^+CD45^+$  клеток у больных КЭ вне зависимости от клинической формы заболевания ( $p = 0,004$ ,  $p = 0,002$ ,  $p < 0,001$  и  $p < 0,001$ ). Кроме того, больные с ЛФ КЭ по сравнению с контролем имели существенное увеличение относительного числа NK-клеток  $CD3^-CD56^+CD45^+$  ( $p < 0,001$ ) в периферической крови. В то же время у больных с МФ КЭ отмечалось статистически значимое снижение относительного и абсолютного числа NK-клеток  $CD3^-CD56^+CD45^+$  в крови по сравнению с больными с более легким течением ЛФ КЭ ( $p = 0,026$ ,  $p = 0,003$ ).

Дополнительно нами выявлены отрицательные корреляционные зависимости между значениями максимальной высоты лихорадки у больных в начале заболевания, которые являются одними из критериев тяжести клинического течения ЛФ и МФ КЭ, и относительным числом лимфоцитов в периферической крови ( $r = -0,66$ ,  $p < 0,001$ ), а также уровнями ЛПС-стимулированной продукции IL-6 ( $r = -0,68$ ,  $p < 0,001$ ) и TNF $\alpha$  ( $r = -0,69$ ,  $p < 0,001$ ) в культурах мононуклеарных лейкоцитов крови. Более того, выявлены положительные корреляционные зависимости между относительным и абсолютным количеством нейтрофилов в гемограмме и уровнем спонтанной продукции IL-8 в культурах мононуклеарных лейкоцитов больных КЭ ( $r = 0,76$ ,  $p < 0,001$  и  $r = 0,69$ ,  $p < 0,001$ ).

## Обсуждение

Известно, что клиническое течение КЭ может варьировать от инспарантной или легкой ЛФ до тяжелых форм заболевания с диссеминацией возбудителя в ЦНС с развитием менингита или энцефалита, что, по-видимому, зависит как от биологических свойств штамма вируса КЭ, так и от индивидуальных особенностей иммунологической резистентности хозяина [1, 16]. Сравнительное изучение особенностей врожденного и адаптивного иммунного ответа в культурах клеток крови, инфицированных штаммами вирусов КЭ с различной патогенностью [16], показало, что высокопатогенный штамм был способен быстро проникать и активно реплицироваться в клетках в условиях *in vitro*, подавляя экспрессию молекул адгезии и активации на моноцитах, NK-клетках и  $CD8^+$  Т-лимфоцитах, приводя к подавлению врожденного иммуни-

тета, в то время как низкопатогенный штамм, напротив, медленно реплицировался в клетках крови, вызывая значительное увеличение экспрессии молекул адгезии и активации, запуская врожденные защитные механизмы и обеспечивая быструю элиминацию вируса из организма, что может predispose к клинически более легкому течению заболевания. Не исключено, что эти данные позволяют в значительной степени объяснить полученные нами результаты различий параметров иммунного ответа между группами больных с ЛФ и МФ КЭ.

Известно, что МФ КЭ клинически протекает более тяжело, чем ЛФ, что сопровождается не только менингеальным синдромом, выраженными симптомами интоксикации и лихорадки, но и тенденцией к умеренному увеличению количества нейтрофилов в гемограмме, которые играют существенную роль во врожденном иммунном ответе [2], что нашло подтверждение в проведенном нами исследовании, а также в положительной корреляционной зависимости между количеством нейтрофилов в периферической крови и уровнями спонтанной секреции в культурах мононуклеарных клеток хемокина IL-8 (CXCL8), который вызывает активацию и дегрануляцию полиморфноядерных лейкоцитов [4].

Как свидетельствуют данные литературы, большинство исследователей, так же, как и мы, при анализе показателей, характеризующих гемограмму и количественную структуру основных субпопуляций лимфоцитов, указывают на уменьшение относительного содержания и/или абсолютного количества лимфоцитов в крови у пациентов с МФ и/или ОФ КЭ по сравнению с условно-здоровым контролем. Однако, в отличие от полученных нами результатов, в литературе представлены сведения о том, что лимфоцитопения формируется, главным образом за счет снижения количества клеток, экспрессирующих антигены Т-хелперов ( $CD3^+CD4^+$ ), но не маркеры Т-цитотоксических лимфоцитов ( $CD3^+CD8^+CD45^+$ ) [3, 6].

Известно, что NK-клетки являются важной частью врожденного иммунитета и активируются при многих вирусных инфекциях человека. Противовирусный ответ NK-клеток включает прямое уничтожение инфицированных вирусом клеток, опосредованное преимущественно высвобождением перфоринов и гранзимов, а также продукцией нескольких провоспалительных цитокинов, включая TNF $\alpha$  [9, 10]. Несколькими авторами было высказано предположение, что при инфекциях, вызванных флавивирусами, включая вирус денге [20, 21] и вирус японского энцефалита [22], NK-клетки играют важную роль в противовирусном контроле и оказывают влияние на тяжесть течения и исход этих заболеваний, хотя основные механизмы такого влияния остаются неизвестными. Установлено, что



у больных острым КЭ с симптомами менингита и менингоэнцефалита в ранний период заболевания также происходит подавление функциональной активности НК-клеток в отношении клеток-мишеней, хотя это не всегда подтверждается какими-либо достоверными изменениями общего количества НК-клеток среди общего числа лимфоцитов [10].

У обследованных нами пациентов с МФ КЭ было выявлено существенное снижение концентрации НК-клеток  $CD3^-CD56^+CD45^+$  в периферической крови по сравнению с больными с менее тяжело протекающей ЛФ КЭ. В то же время в группе пациентов с ЛФ КЭ количество НК-клеток было значительно выше, чем у здоровых лиц, что в целом соотносится с результатами Н.В. Крыловой с соавт. [3], продемонстрировавших аналогичное разнонаправленное изменение числа НК-клеток ( $CD3^-CD16^+CD56^+$ ) в периферической крови больных с ОФ и ЛФ КЭ в остром периоде заболевания. Снижение количества НК-клеток и дефицит Т-клеточного звена иммунитета в крови у пациентов с тяжелым течением ОФ КЭ эти авторы рассматривали как один из критериев прогрессирования КЭ, в то время как умеренная активация системного цитокинового ответа Th1-типа и компенсаторный характер изменений параметров Т-клеточного иммунитета у больных с ЛФ может рассматриваться как адекватный иммунный ответ на инфекцию [3]. Не исключено, что эта закономерность указывает на миграцию НК-клеток через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), поскольку они были обнаружены в СМЖ пациентов с МФ и ОФ острого КЭ [11].

Исследования, включающие анализ концентраций цитокинов в биологических жидкостях у больных в зависимости от клинической формы КЭ демонстрируют противоречивые результаты [3, 6, 7, 12, 23]. По данным одних авторов у больных с МФ и ОФ КЭ в сыворотке крови [6, 23] и в особенности в СМЖ [10, 12, 23] было обнаружено значительное повышение уровней провоспалительных хемокинов/цитокинов IL-8, MCP-1, IL-6, IFN $\gamma$  и/или TNF $\alpha$  по сравнению с группой условно-здоровых лиц и пациентов с ЛФ КЭ. Повышенные уровни провоспалительных цитокинов в сыворотке крови постепенно нормализовались в стадию реконвалесценции у больных с благоприятным исходом заболевания [12]. Кроме того, уровни иммуносупрессорного цитокина IL-10 в СМЖ обратнo коррелировали с более тяжелым течением менингоэнцефалита, вызванного вирусом КЭ [12, 23].

Другие исследователи, напротив, при ОФ острого КЭ выявили недостаточность ответа Th1-типа и отсутствие значимых различий по сравнению с группой условно-здоровых лиц для концентрации провоспалительных цитокинов IL-8, IL-1 $\beta$  и/или TNF $\alpha$  в сыворотке крови, а также обнаружили существенное снижение

уровней этих цитокинов в сыворотке и индексов стимуляции (ИС) TNF $\alpha$  и IL-10 в супернатантах культур мононуклеарных клеток, индуцированных конканавалином А, по сравнению с больными ЛФ КЭ [3]. В то же время у больных с ЛФ КЭ концентрации этих цитокинов в сыворотке крови существенно превышали аналогичные показатели в контроле, что в целом соотносится с полученными нами данными и свидетельствует о разнонаправленных изменениях активности факторов врожденного иммунитета у больных с разными формами КЭ: при более легкой ЛФ и при тяжелом течении с поражением ЦНС [3, 7]. Подавление в культурах мононуклеарных лейкоцитов крови спонтанной и ЛПС-стимулированной продукции провоспалительных цитокинов, таких как IL-6, TNF $\alpha$  и IFN $\alpha$ , было выявлено при тяжелом течении некоторых других инфекционных заболеваний, в частности, при коронавирусной инфекции COVID-19 [8]. Менингеальная форма у больных острым КЭ, характеризующаяся проникновением вируса КЭ через ГЭБ, по-видимому, сопровождается более выраженной дисрегуляцией иммунного ответа, приводящей к дефициту НК-клеток, количественному дисбалансу субпопуляций Т-лимфоцитов, увеличению числа нейтрофилов в периферической крови и подавлению спонтанной и/или митоген-стимулированной продукции провоспалительных цитокинов, ответственных за реакции врожденного иммунитета, главным образом, IL-6, TNF $\alpha$  и MCP-1.

## Заключение

Таким образом, установлено, что в группе больных МФ КЭ, имевших более тяжелое клиническое течение заболевания, интенсивность спонтанной и/или ЛПС-стимулированной секреции мононуклеарными лейкоцитами крови провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1 и TNF $\alpha$  была существенно ниже, а IL-8, напротив, выше, чем у пациентов с ЛФ КЭ. Кроме того, у больных с МФ КЭ уровни спонтанной и/или ЛПС-индуцированной выработки IL-6 и TNF $\alpha$  либо не имели статистически значимых различий, либо оказались ниже соответствующих контрольных значений, что также свидетельствует об угнетении функциональной активности клеток. Напротив, в группе пациентов с ЛФ КЭ уровни спонтанной и/или ЛПС-индуцированной продукции IL-1 $\beta$ , IL-6, MCP-1 и TNF $\alpha$  были значительно выше, чем у здоровых лиц. При этом спонтанная секреция иммуносупрессорного цитокина IL-10 у пациентов обеих групп существенно превышала таковую в контроле. Независимо от клинической формы у пациентов с КЭ в крови выявлено существенное снижение по сравнению с условно-здоровыми донорами относительного числа лимфо-

цитов, относительного и абсолютного числа Т-цитотоксических клеток. У больных с МФ КЭ отмечалось статистически значимое повышение числа нейтрофилов в гемограмме, снижение относительного и абсолютного количества НК-клеток по сравнению с больными с менее тяжело протекающей ЛФ КЭ. По-видимому, развитие МФ у больных острым КЭ ассоциировано с более выраженной дисрегуляцией иммунного ответа, приводящей к дефициту НК-клеток,

количественному дисбалансу субпопуляций Т-лимфоцитов, увеличению числа нейтрофилов в периферической крови и подавлению продукции провоспалительных цитокинов, ответственных за реакции врожденного иммунитета.

## Дополнительная информация

**Конфликт интересов.** Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

## Список литературы/References

1. Аитов К.А., Бурданова Т.М., Верхозина М.М., Демина Т.В., Джиоев Ю.П., Козлова И.В., Лемешевская М.В., Малов С.И., Орлова Л.С., Ткачев С.Е., Малов И.В., Злобин В.И. Клещевой энцефалит в Восточной Сибири: этиология, молекулярная эпидемиология, особенности клинического течения // *Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение*. 2018. Т. 7, № 3 (26). С. 31–40. [Aitov K.A., Burdanova T.M., Verkhovina M.M., Demina T.V., Dzhiyev Yu.P., Kozlova I.V., Lemeshevskaya M.V., Malov S.I., Orlova L.S., Tkachev S.E., Malov I.V., Zlobin V.I. Tick-borne encephalitis in Eastern Siberia: etiology, molecular epidemiology and peculiarities of the clinical course. *Infeckionne bolezni: novosti, mneniya, obuchenie = Infectious Diseases: News, Opinions, Training*, 2018, vol. 7, no. 3 (26), pp. 31–40. (In Russ.) doi: 10.24411/2305-3496-2018-13005]
2. Иерусалимский А.П. Клещевой энцефалит: руководство для врачей. Новосибирск: Государственная медицинская академия МЗ РФ, 2001. 360 с. [Jerusalimsky A.P. Tick-borne encephalitis. Manual for physicians. *Novosibirsk: State Medical Academy Publishers*, 2001. 360 p. (In Russ.)]
3. Крылова Н.В., Леонова Г.Н., Павленко Е.В., Запорожец Т.С., Смолина Т.П., Гажа А.К., Новиков Д.В., Ченцова И.В. Комплексная оценка состояния иммунной системы при различных формах клещевого энцефалита в остром периоде // *Медицинская иммунология*. 2012. Т. 14, № 4–5. С. 313–320. [Krylova N.V., Leonova G.N., Pavlenko E.V., Zaporozhets T.S., Smolina T.P., Gazha A.K., Novikov D.V., Chenzova I.V. Comprehensive assessment of immune system in various forms of tick-borne encephalitis in acute phase. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, vol. 14, no. 4–5, pp. 313–320. (In Russ.) doi: 10.15789/1563-0625-2012-4-5-313-320]
4. Мерфи К., Уивер К. Иммунобиология по Джанвэю. Под ред. Г.А. Игнатъевой, О.А. Свитич, И.Н. Дьякова. М.: Логосфера, 2020. 1184 с. [Murphy K., Weaver C. *Janeway's Immunology*. Eds.: Ignat'eva G.A., Svitich O.A., D'yakova I.N. *Moscow: Logosfera*, 2020. 1184 p. (In Russ.)]
5. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика. Под ред. В.П. Леонова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. 232 с. [Petrie A., Sabin K. *Medical statistics at a glance*. Ed. Leonov V.P. *Moscow: GEOTAR-Media*, 2021. 232 p. (In Russ.)]
6. Стенько Е.А., Ратникова Л.И., Ермакова Н.В. Состояние клеточного и гуморального иммунитета при инфицировании вирусом семейства Flaviviridae // *Известия высших учебных заведений. Уральский регион*. 2013. № 2. С. 138–144. [Stenko E.A., Ratnikova L.I., Ermakova N.V. Cellular and humoral immunity when infected by a virus of the family Flaviviridae. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Ural'skiy region = News of Higher Educational Institutions. Ural Region*, 2013, no. 2, pp. 138–144. (In Russ.)]
7. Сумливая О.Н., Воробьева Н.Н., Каракулова Ю.В. Диагностическое значение определения концентрации серотонина и высокочувствительного С-реактивного белка в крови у больных клещевым энцефалитом // *Медицинская паразитология и паразитарные болезни*. 2014. № 2. С. 25–29. [Sumlivaya O.N., Vorobyova N.N., Karakulova Yu.V. Diagnostic value of determining the concentration of serotonin and high-sensitivity C-reactive protein in the blood in patients with tick-borne encephalitis. *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnye bolezni = Medical Parasitology and Parasitic Diseases*, 2014, no. 2, pp. 25–29. (In Russ.)]
8. Arunachalam P.S., Wimmers F., Mok C.K.P., Perera R.A.P.M., Scott M., Hagan T., Sigal N., Feng Y., Bristow L., Tak-Yin Tsang O., Wagh D., Collier J., Pellegrini K.L., Kazmin D., Alaaeddine G., Leung W.S., Chan J.M.C., Chik T.S.H., Choi C.Y.C., Huerta C., Paine McCullough M., Lv H., Anderson E., Edupuganti S., Upadhyay A.A., Bosinger S.E., Maecker H.T., Khatri P., Rouphael N., Peiris M., Pulendran B. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. *Science*, 2020, vol. 369, no. 6508, pp. 1210–1220. doi: 10.1126/science.abc6261
9. Björkström N.K., Strunz B., Ljunggren H.G. Natural killer cells in antiviral immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2022, vol. 22, no. 2, pp. 112–123. doi: 10.1038/s41577-021-00558-3
10. Blom K., Braun M., Pakalniene J., Lunemann S., Enqvist M., Dailidyte L., Schaffer M., Lindquist L., Mickiene A., Micha Isson J., Ljunggren H.G., Gredmark-Russ S. NK Cell responses to human tick-borne encephalitis virus infection. *J. Immunol.*, 2016, vol. 197, no. 7, pp. 2762–2771. doi: 10.4049/jimmunol.1600950
11. Blom K., Cuapio A., Sandberg J.T., Varnaite R., Michaëlsson J., Björkström N.K., Sandberg J.K., Klingström J., Lindquist L., Gredmark Russ S., Ljunggren H.G. Cell-mediated immune responses and immunopathogenesis of human tick-borne encephalitis virus-infection. *Front. Immunol.*, 2018, no. 9: 2174. doi: 10.3389/fimmu.2018.02174
12. Bogovič P., Kastrin A., Lotrič-Furlan S., Ogrinc K., Avšič Županc T., Korva M., Knap N., Resman Rus K., Strle K., Strle F. Comparison of laboratory and immune characteristics of the initial and second phase of tick-borne encephalitis. *Emerg. Microbes Infect.*, 2022, vol. 11, no. 1, pp. 1647–1656. doi: 10.1080/22221751.2022.2086070
13. Bogovič P., Lusa L., Korva M., Lotrič-Furlan S., Resman-Rus K., Pavletič M., Avšič-Županc T., Strle K., Strle F. Inflammatory immune responses in patients with tick-borne encephalitis: dynamics and association with the outcome of the disease. *Microorganisms*, 2019, vol. 7, no. 11: 514. doi: 10.3390/microorganisms7110514

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. Gerada C., Campbell T.M., Kennedy J.J., McSharry B.P., Steain M., Slobedman B., Abendroth A. Manipulation of the innate immune response by varicella zoster virus. *Front. Immunol.*, 2020, no. 11: 1. doi: 10.3389/fimmu.2020.00001
16. Krylova N.V., Smolina T.P., Leonova G.N. Molecular mechanisms of interaction between human immune cells and Far Eastern tick-borne encephalitis virus strains. *Viral Immunol.*, 2015, vol. 28, no. 5, pp. 272–281. doi:10.1089/vim.2014.0083
17. Lannoy V., Côté-Biron A., Asselin C., Rivard N. TIRAP, TRAM, and Toll-Like receptors: the untold story. *Mediators Inflamm.*, 2023: 2899271. doi: 10.1155/2023/2899271
18. Lindqvist R., Upadhyay A., Överby A.K. Tick-borne Flaviviruses and the type I interferon response. *Viruses*, 2018, vol. 10, no. 7: 340. doi: 10.3390/v10070340
19. Ma N., Li X., Jiang H., Dai Y., Xu G., Zhang Z. Influenza virus neuraminidase engages CD83 and promotes pulmonary injury. *J. Virol.*, 2021, vol. 95, no. 3: e01753-20. doi: 10.1128/JVI.01753-20
20. Mathew A. Defining the role of NK cells during dengue virus infection. *Immunology*, 2018, vol. 154, no. 4, pp. 557–562. doi: 10.1111/imm.12928
21. Sekaran S.D., Ismail A.A., Thergarajan G., Chandramathi S., Rahman S.K.H., Mani R.R., Jusof F.F., Lim Y.A.L., Manikam R. Host immune response against DENV and ZIKV infections. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2022, no. 12: 975222. doi: 10.3389/fcimb.2022.975222
22. Sharma K.B., Chhabra S., Kalia M. Japanese encephalitis virus-infected cells. *Subcell. Biochem.*, 2023, no. 106, pp. 251–281. doi: 10.1007/978-3-031-40086-5\_10
23. Zidovec-Lepej S., Vilibic-Cavlek T., Ilic M., Gorenec L., Grgic I., Bogdanic M., Radmanic L., Ferenc T., Sabadi D., Savic V., Hruskar Z., Svitek L., Stevanovic V., Peric L., Lisnjic D., Lakoseljic D., Roncevic D., Barbic L. Quantification of antiviral cytokines in serum, cerebrospinal fluid and urine of patients with tick-borne encephalitis in Croatia. *Vaccines (Basel)*, 2022, vol. 10, no. 11: 1825. doi: 10.3390/vaccines10111825

**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;

**Решетова А.В.**, аспирант кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии 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;

**Есимова И.Е.**, д.м.н., доцент кафедры биологии и генетики ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;

**Чернышов Н.А.**, аспирант кафедры биологии и генетики 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;

**Поломошнова Е.М.**, студент ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;

**Минакова Е.В.**, студент ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия.

**Authors:**

**Ilyinskikh E.N.**, DSc (Medicine), Associate Professor, Professor of the Division of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

**Voronkova O.V.**, DSc (Medicine), Associate Professor, Head of the Division of Biology and Genetics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

**Reshetova A.V.**, PhD Student of the Division of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

**Hasanova R.R.**, PhD (Medicine), Associate Professor of the Division of Biology and Genetics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

**Esimova I.E.**, DSc (Medicine), Associate Professor of the Division of Biology and Genetics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

**Chernyshov N.A.**, PhD Student of the Division of Biology and Genetics, 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;

**Polomoshnova E.M.**, Student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

**Minakova E.V.**, Student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.