

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

Ильинских Е. Н. ¹,
Воронкова О. В. ¹,
Решетова А. В. ¹,
Хасанова Р. Р. ¹,
Есимова И. Е. ¹,
Чернышов Н. А. ¹,
Ямпольская О. В. ¹,
Ямпольская А. В. ¹,
Поломошнова Е. М. ¹,
Минакова Е. В. ¹

¹ ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет
Минздрава России, Томск, Россия.

**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. ^a,

Voronkova O. V. ^a,

Reshetova A. V. ^a,

Hasanova R. R. ^a,

Esimova I. E. ^a,

Chernyshov N. A. ^a,

Yampolskaya O. V. ^a,

Yampolskaya A. V. ^a,

Polomoshnova E. M. ^a,

Minakova E. V. ^a

^a Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

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.* Группы 1 и 2 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 НК-клеток, а также дважды в динамике – при госпитализации и через две недели при выписке методом иммуноферментного анализа в кондиционной среде культур мононуклеарных лейкоцитов крови была проведена оценка концентраций спонтанной и ЛПС-стимулированной секреции TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-8 и MCP-1. Для статистического анализа использовали U-критерии Манна–Уитни и критерий Вилкоксона. *Результаты.* В группе 2 у больных с клинически более тяжелой менингеальной формой КЭ уровни спонтанной и/или ЛПС-стимулированной секреции провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, MCP-1 и TNF- α 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- α не имели статистически значимых различий от контрольных значений, что также свидетельствовало о подавлении их продукции. Напротив, в группе 1 уровни спонтанной и/или ЛПС-индуцированной продукции IL-1 β , IL-6, MCP-1 и TNF- α 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 МФ КЭ отмечалось статистически значимое повышение числа нейтрофилов в гемограмме, снижение относительного и абсолютного количества НК-клеток по сравнению с больными с более легко протекающей ЛФ 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.

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- α , IL-1 β , 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 β , IL-6, MCP-1, and TNF- α , but showed higher IL-8 level as compared with Group 1. In addition, spontaneous and/or LPS-induced levels of IL-6 and TNF- α 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 β , IL-6, MCP-1, and TNF- α 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. *Conclusions.* 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.

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

1 **1 Введение**

2 Клещевой энцефалит (КЭ) – это самая распространенная на территории
3 России, в особенности в Западной Сибири, природно-очаговая арбовирусная
4 инфекционная болезнь с трансмиссивным механизмом передачи возбудителя,
5 преимущественно клинически протекающая в виде лихорадочной формы
6 (ЛФ), а также с возможностью поражения ЦНС и развитием менингеальной
7 или очаговой форм (МФ или ОФ) болезни [2].

8 Исследования закономерностей иммунного ответа у больных КЭ,
9 которые в основном ограничены определением различных параметров
10 цитокинового статуса в сыворотке периферической крови пациентов,
11 проведенные различными авторами, показали противоречивые результаты [3,
12 6, 7, 12, 23]. Кроме того, в литературе недостаточно информации об
13 изменениях спонтанной и митоген-индуцированной секреции цитокинов в
14 клеточных культурах лейкоцитов, полученных от больных КЭ в зависимости
15 от различных клинических форм КЭ [3]. Известно, что общий
16 иммунорегуляторный эффект цитокинов связан с их сложным сетевым
17 взаимодействием, когда усиление секреции одних цитокинов может
18 сопровождаться подавлением синтеза других, что во многом определяет
19 особенности клинического течения заболевания [4].

20 Как известно, оценка функциональной активности иммунитета может
21 проводиться с использованием культуральных методов, преследующих
22 оценку продукции цитокинов и интенсивности пролиферации лимфоцитов
23 периферической крови в ответ на стимуляцию клеток различными
24 неспецифическими поликлональными митогенами растительного или
25 бактериального происхождения, что в условиях *in vitro* позволяет получить
26 информацию о реактивности клеточных факторов иммунитета у пациентов в
27 динамике в зависимости от биологических свойств возбудителя, клинической
28 формы и тяжести течения изучаемой патологии, включая бактериальные и

29 вирусные инфекции, островоспалительные или аутоиммунные заболевания
30 [4].

31 Одним из широко применяемых митогенов является липополисахарид
32 (ЛПС), представляющий собой основной компонент клеточной стенки
33 грамотрицательных бактерий, который используется для оценки в условиях *in*
34 *vitro* состоятельности преимущественно факторов врожденного иммунитета
35 [4]. Основными рецепторами распознавания ЛПС являются Toll-подобные
36 рецепторы (TLR)4 при участии CD14, активация которых посредством
37 транскрипционного ядерного фактора каппа (nuclear factor kappa-light-chain-
38 enhancer of activated B-cells, NFκB) инициирует экспрессию генов
39 интерлейкинов (IL)-1β, IL-6, IL-12, фактора некроза опухоли (TNF)-α, а также
40 хемокинов – хемоаттрактантного белка моноцитов (MCP)-1 (CCL2) и IL-8
41 (CXCL8), обладающих провоспалительными свойствами [14, 17].

42 Показано, что различные вирусы и их антигены по-разному
43 взаимодействуют с мононуклеарными лейкоцитами, стимулированными ЛПС,
44 что позволяет изучать особенности врожденного иммунного ответа при этих
45 заболеваниях. В частности, нейраминидаза вируса гриппа усиливает ЛПС-
46 стимулированную экспрессию NF-κB и гиперпродукцию провоспалительных
47 цитокинов врожденного иммунного ответа, что может способствовать
48 развитию «цитокинового шторма» и повреждению легких [19]. В то же время,
49 герпесвирусы способны устанавливать персистентную инфекцию, благодаря
50 стратегии уклонения от иммунитета, в том числе за счет подавления
51 механизмов врожденного иммунного ответа [15]. Известно, что РНК вируса
52 КЭ распознается TLR3, TLR7 и TLR8, что стимулирует экспрессию генов
53 провоспалительных цитокинов – IL-1β и TNF-α, а также секрецию
54 интерферонов (IFN) типа I, запуская реакции врожденного иммунитета [18].
55 Особенности врожденного иммунного ответа на вирус КЭ изучены
56 недостаточно, хотя предполагают, что от этого зависит клиническое течение

57 заболевания и риск диссеминации возбудителя в ЦНС с развитием более
58 тяжелых форм инфекции [13, 18].

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

63 2 Материалы и методы

64 В исследовании приняли участие 28 больных с ЛФ и МФ острого КЭ,
65 госпитализированных в первую неделю болезни в инфекционную клинику
66 Сибирского государственного медицинского университета (СибГМУ)
67 Минздрава России. У всех пациентов диагноз среднетяжелого течения ЛФ или
68 МФ КЭ был подтвержден данными эпидемиологического анамнеза,
69 клинического и клинико-лабораторного обследования, включая исследование
70 спинномозговой жидкости (СМЖ), и сформулирован в соответствии с
71 клинической классификацией [2]. Лабораторная верификация диагноза
72 проводилось с помощью определения коэффициентов позитивности (КП) для
73 специфических иммуноглобулинов (Ig) классов М и G к вирусу КЭ методом
74 иммуноферментного анализа (ИФА) в день госпитализации пациентов и через
75 14 дней с использованием тест-систем АО «Вектор-Бест» (Россия). Кроме
76 того, у всех обследованных больных на основании отрицательных результатов
77 определения специфических IgM и IgG к *Borrelia burgdorferi* s.l. в ИФА, а
78 также ДНК *Borrelia miyamotoi* и *Anaplasma phagocytophilum* методом
79 полимеразной цепной реакции (ПЦР) (наборы АО «Вектор-Бест», Россия),
80 были исключены иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ), возвратная клещевая
81 лихорадка и гранулоцитарный анаплазмоз человека. Выше перечисленные
82 методы ИФА также были применены в контрольной группе условно-здоровых
83 доноров для исключения лиц, сероположительных по клещевым инфекциям.

84 Письменное добровольное информированное согласие дали все
85 участники исследования. Проведение исследования получило одобрение

86 этического комитета СибГМУ Минздрава России (протоколы № 9119/1 от
87 30.05.2022 г. и № 9568 от 30.10.2023 г.).

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

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

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

105 Метод иммунофенотипирования лимфоцитов с применением
106 флуоресцентно-меченых моноклональных антител (Elabscience, КНР) и
107 последующим многоцветным цитометрическим анализом на проточном
108 цитофлуориметре Accuri C6 (BD Biosciences, США) был использован для
109 определения абсолютного количества и относительного числа В-лимфоцитов
110 $CD19^+CD3^-$, Т-лимфоцитов $CD3^+CD19^-$, Т-хелперов/индукторов
111 $CD3^+CD4^+CD45^+$, Т-цитотоксических лимфоцитов $CD3^+CD8^+CD45^+$ и
112 натуральных киллеров – НК-клеток $CD3^-CD56^+CD45^+$.

113 Первичные культуры мононуклеарных лейкоцитов, выделенных из
114 венозной крови методом градиентного центрифугирования на фиколле (ООО

115 «БиолоТ», Россия), были получены для оценки спонтанной и ЛПС-
116 стимулированной секреции TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-8 и MCP-1 методом
117 ИФА в образцах кондиционной среды с помощью наборов АО «Вектор-Бест»
118 (Россия). Кроме того, рассчитывали индекс стимуляции (ИС) как отношение
119 показателя интенсивности митоген-стимулированной продукции цитокина в
120 культуральной жидкости к соответствующему спонтанному уровню.
121 Культивирование клеток осуществляли в полной питательной среде на основе
122 RPMI-1640 (ООО «БиолоТ», Россия) без применения митогена для оценки
123 уровней спонтанной продукции цитокинов или после стимуляции 10 нг/мл
124 бактериальным ЛПС *Escherichia coli* («Servicebio», КНР) в CO₂-инкубаторе
125 HF90 («Heal Force», КНР) при 37°C и 5% концентрации CO₂ в течение 24 ч.

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

136 3 Результаты исследования

137 Установлено (табл. 1), что в начале заболевания уровни спонтанной
138 продукции провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α , а также хемокина
139 MCP-1 (CCL2) в супернатантах культур мононуклеарных лейкоцитов,
140 полученных от больных с ЛФ КЭ, были существенно выше, чем у больных с
141 МФ КЭ ($p=0,017$, $p=0,035$, $p=0,035$), а также по сравнению с
142 соответствующими показателями в группе условно-здоровых лиц ($p=0,009$,
143 $p=0,018$, $p < 0,001$). Уровни базальной продукции IL-6 в культуральной

144 жидкости мононуклеарных лейкоцитов у пациентов с ЛФ КЭ в первую неделю
145 болезни оказались достоверно выше, чем у здоровых доноров ($p=0,035$),
146 однако существенных различий этого показателя от группы больных с МФ
147 обнаружено не было ($p>0,05$). Кроме того, у больных с МФ КЭ уровни
148 спонтанной секреции мононуклеарными клетками IL-1 β , IL-6 и TNF- α
149 статистически значимо не отличались от соответствующих параметров в
150 группе контроля ($p>0,05$ во всех случаях), что, по-видимому,
151 свидетельствовало о подавлении продукции этих цитокинов в случае
152 клинически более тяжелой формы заболевания.

153 Изучение спонтанной продукции этих цитокинов в супернатантах
154 культур мононуклеарных клеток через две недели показало, что в группе
155 пациентов с ЛФ КЭ уровни IL-1 β значительно повышались ($p=0,005$), в то
156 время как уровни IL-6, TNF- α и MCP-1 не имели статистических значимых
157 изменений в динамике, оставаясь, также как и концентрации IL-1 β , выше
158 соответствующих значений в контрольной группе ($p<0,001$ во всех случаях,
159 кроме $p=0,005$ для TNF- α). В группе больных МФ КЭ в динамике через две
160 недели после курса терапии отмечалось существенное повышение уровней
161 спонтанной секреции IL-1 β , TNF- α и MCP-1 ($p=0,025$, $p=0,012$ и $p=0,034$
162 соответственно). Кроме того, концентрации этих цитокинов в культурах
163 больных с МФ КЭ после курса терапии превышали соответствующие значения
164 у условно-здоровых лиц ($p=0,044$, $p<0,001$ и $p<0,001$ для IL-1 β , TNF- α и MCP-
165 1 соответственно).

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

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

180 Стимуляция культур мононуклеарных лейкоцитов ЛПС у больных МФ
181 КЭ в первую неделю заболевания приводила к существенному подавлению
182 уровней секреции таких провоспалительных цитокинов врожденного
183 иммунного ответа как IL-6, MCP-1 и TNF- α по сравнению с уровнями
184 соответствующих параметров у пациентов с ЛФ КЭ ($p<0,001$ во всех случаях,
185 кроме $p=0,040$ для MCP-1), что в отношении ЛПС-индуцированной продукции
186 IL-6 и TNF- α сохранялось неизменным в динамике и через две недели ($p<0,001$
187 во всех случаях). Кроме того, у больных с МФ КЭ уровни ЛПС-
188 стимулированной секреции IL-6 и TNF- α не имели статистически значимых
189 различий от контрольных значений, что также свидетельствовало о
190 подавлении их продукции ($p>0,05$). Вместе с тем, в начале заболевания и в
191 динамике после курса терапии в культурах мононуклеарных лейкоцитов
192 группы пациентов с ЛФ КЭ уровни ЛПС-индуцированной продукции IL-1 β ,
193 IL-6, IL-10, MCP-1 и TNF- α были значительно выше, чем в контроле ($p<0,001$
194 во всех случаях для IL-1 β , IL-6, MCP-1 и TNF- α ; $p=0,043$, $p=0,031$ для IL-10
195 соответственно). Напротив, ЛПС-индуцированная секреция IL-8 в клеточных
196 культурах у пациентов с ЛФ КЭ была значительно подавлена по сравнению с
197 больными МФ КЭ и контролем ($p<0,001$ во всех случаях), а в группе пациентов
198 с МФ не имела существенных отличий от условно-здоровых лиц ($p>0,05$).

199 Кроме того, в группе пациентов с МФ КЭ в начале заболевания индексы
200 стимуляции (ИС) для IL-8 ($p<0,001$), IL-6 ($p=0,045$) и TNF- α ($p=0,023$) были

201 существенно ниже, а ИС МСР-1 не имел существенных различий ($p > 0,05$) от
202 соответствующих параметров у условно-здоровых лиц, что, по-видимому,
203 отражало угнетение продукции этих цитокинов в культурах мононуклеарных
204 лейкоцитов у больных КЭ с менингеальным синдромом.

205 В таблице 2 приведены результаты оценки субпопуляционного состава
206 лимфоцитов в периферической крови больных с ЛФ и МФ КЭ в первую
207 неделю заболевания. Наряду с этим, показано, что больные с МФ КЭ по
208 сравнению с ЛФ и с контрольной группой имели существенно более высокие
209 значения общего количества лейкоцитов крови ($p = 0,008$ и $p = 0,006$), главным
210 образом за счет повышения относительного и абсолютного числа нейтрофилов
211 ($p = 0,012$, $p = 0,026$, $p < 0,001$, $p < 0,001$) в гемограмме. В периферической крови
212 обеих групп пациентов с КЭ по сравнению с условно-здоровыми донорами
213 было выявлено существенное снижение относительного числа лимфоцитов
214 ($p = 0,003$ и $p = 0,025$), а в группе больных с ЛФ КЭ было обнаружено
215 уменьшение абсолютного количества этих клеток ($p = 0,031$), что, по-
216 видимому, прежде всего было обусловлено значительно более низкими
217 уровнями относительного и абсолютного числа Т-цитотоксических
218 $CD3^+CD8^+CD45^+$ клеток у больных КЭ вне зависимости от клинической
219 формы заболевания ($p = 0,004$, $p = 0,002$, $p < 0,001$ и $p < 0,001$). Кроме того,
220 больные с ЛФ КЭ по сравнению с контролем имели существенное увеличение
221 относительного числа НК-клеток $CD3^-CD56^+CD45^+$ ($p < 0,001$) в
222 периферической крови. В тоже время, у больных с МФ КЭ отмечалось
223 статистически значимое снижение относительного и абсолютного числа НК-
224 клеток $CD3^-CD56^+CD45^+$ в крови по сравнению с больными с более легким
225 течением ЛФ КЭ ($p = 0,026$, $p = 0,003$).

226 Дополнительно, нами выявлены отрицательные корреляционные
227 зависимости между значениями максимальной высоты лихорадки у больных в
228 начале заболевания, которые являются одними из критериев тяжести
229 клинического течения ЛФ и МФ КЭ, и относительным числом лимфоцитов в

230 периферической крови ($r = -0,66$, $p < 0,001$), а также уровнями ЛПС-
231 стимулированной продукции IL-6 ($r = -0,68$, $p < 0,001$) и TNF- α ($r = -0,69$,
232 $p < 0,001$) в культурах мононуклеарных лейкоцитов крови. Более того,
233 выявлены положительные корреляционные зависимости между
234 относительным и абсолютным количеством нейтрофилов в гемограмме и
235 уровнем спонтанной продукции IL-8 в культурах мононуклеарных лейкоцитов
236 больных КЭ ($r = 0,76$, $p < 0,001$ и $r = 0,69$, $p < 0,001$).

237 4 Обсуждение результатов

238 Известно, что клиническое течение КЭ может варьировать от
239 инаппарантной или легкой ЛФ до тяжелых форм заболевания с диссеминацией
240 возбудителя в ЦНС с развитием менингита или энцефалита, что, по-видимому,
241 зависит как от биологических свойств штамма вируса КЭ, так и от
242 индивидуальных особенностей иммунологической резистентности хозяина [1,
243 16]. Сравнительное изучение особенностей врожденного и адаптивного
244 иммунного ответа в культурах клеток крови, инфицированных штаммами
245 вирусов КЭ с различной патогенностью [16], показало, что высокопатогенный
246 штамм был способен быстро проникать и активно реплицироваться в клетках
247 в условиях *in vitro*, подавляя экспрессию молекул адгезии и активации на
248 моноцитах, NK-клетках и CD8⁺ Т-лимфоцитах, приводя к подавлению
249 врожденного иммунитета, в то время как низкопатогенный штамм, напротив,
250 медленно реплицировался в клетках крови, вызывая значительное увеличение
251 экспрессии молекул адгезии и активации, запуская врожденные защитные
252 механизмы и обеспечивая быструю элиминацию вируса из организма, что
253 может предрасполагать к клинически более легкому течению заболевания. Не
254 исключено, что эти данные позволяют в значительной степени объяснить
255 полученные нами результаты различий параметров иммунного ответа между
256 группами больных с ЛФ и МФ КЭ.

257 Известно, что МФ КЭ клинически протекает более тяжело, чем ЛФ, что
258 сопровождается не только менингеальным синдромом, выраженными

259 симптомами интоксикации и лихорадки, но и тенденцией к умеренному
260 увеличению количества нейтрофилов в гемограмме, которые играют
261 существенную роль во врожденном иммунном ответе [2], что нашло
262 подтверждение в проведенном нами исследовании, а также в положительной
263 корреляционной зависимости между количеством нейтрофилов в
264 периферической крови и уровнями спонтанной секреции в культурах
265 мононуклеарных клеток хемокина IL-8 (CXCL8), который вызывает
266 активацию и дегрануляцию полиморфноядерных лейкоцитов [4].

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

277 Известно, что НК-клетки являются важной частью врожденного
278 иммунитета и активируются при многих вирусных инфекциях человека.
279 Противовирусный ответ НК-клеток включает прямое уничтожение
280 инфицированных вирусом клеток, опосредованное преимущественно
281 высвобождением перфоринов и гранзимов, а также продукцией нескольких
282 провоспалительных цитокинов, включая TNF- α [9, 10]. Несколькими авторами
283 было высказано предположение, что при инфекциях, вызванных
284 флавивирусами, включая вирус денге [20, 21] и вирус японского энцефалита
285 [22], НК-клетки играют важную роль в противовирусном контроле и
286 оказывают влияние на тяжесть течения и исход этих заболеваний, хотя
287 основные механизмы такого влияния остаются неизвестными. Установлено,

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

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

310 Исследования, включающие анализ концентраций цитокинов в
311 биологических жидкостях у больных в зависимости от клинической формы КЭ
312 демонстрируют противоречивые результаты [3, 6, 7, 12, 23]. По данным одних
313 авторов у больных с МФ и ОФ КЭ в сыворотке крови [6, 23] и, в особенности
314 в СМЖ [10, 12, 23], было обнаружено значительное повышение уровней
315 провоспалительных хемокинов/цитокинов IL-8, MCP-1, IL-6, IFN- γ и/или
316 TNF- α по сравнению с группой условно-здоровых лиц и пациентов с ЛФ КЭ.

317 Повышенные уровни провоспалительных цитокинов в сыворотке крови
318 постепенно нормализовались в стадию реконвалесценции у больных с
319 благоприятным исходом заболевания [12]. Кроме того, уровни
320 иммуносупрессорного цитокина IL-10 в СМЖ обратно коррелировали с более
321 тяжелым течением менингоэнцефалита, вызванного вирусом КЭ [12, 23].

322 Другие исследователи, напротив, при ОФ острого КЭ выявили
323 недостаточность ответа Th1-типа и отсутствие значимых различий по
324 сравнению с группой условно-здоровых лиц для концентрации
325 провоспалительных цитокинов IL-8, IL-1 β и/или TNF- α в сыворотке крови, а
326 также обнаружили существенное снижение уровней этих цитокинов в
327 сыворотке и индексов стимуляции (ИС) TNF- α и IL-10 в супернатантах
328 культур моноклеарных клеток, индуцированных конканавалином А, по
329 сравнению с больными ЛФ КЭ [3]. В то же время, у больных с ЛФ КЭ
330 концентрации этих цитокинов в сыворотке крови существенно превышали
331 аналогичные показатели в контроле, что в целом соотносится с полученными
332 нами данными и свидетельствует о разнонаправленных изменениях
333 активности факторов врожденного иммунитета у больных с разными формами
334 КЭ: при более легкой ЛФ и при тяжелом течении с поражением ЦНС [3, 7].
335 Подавление в культурах моноклеарных лейкоцитов крови спонтанной и
336 ЛПС-стимулированной продукции провоспалительных цитокинов, таких как
337 IL-6, TNF- α и IFN- α , было выявлено при тяжелом течении некоторых других
338 инфекционных заболеваний, в частности, при коронавирусной инфекции
339 COVID-19 [8]. Менингеальная форма у больных острым КЭ,
340 характеризующаяся проникновением вируса КЭ через ГЭБ, по-видимому,
341 сопровождается более выраженной дисрегуляцией иммунного ответа,
342 приводящей к дефициту НК-клеток, количественному дисбалансу
343 субпопуляций Т-лимфоцитов, увеличению числа нейтрофилов в
344 периферической крови и подавлению спонтанной и/или митоген-

345 стимулированной продукции провоспалительных цитокинов, ответственных
346 за реакции врожденного иммунитета, главным образом, IL-6, TNF- α и MCP-1.

347 5 Заключение

348 Таким образом, установлено, что в группе больных МФ КЭ, имевших
349 более тяжелое клиническое течение заболевания, интенсивность спонтанной
350 и/или ЛПС-стимулированной секреции мононуклеарными лейкоцитами крови
351 провоспалительных цитокинов IL-1 β , IL-6, MCP-1 и TNF- α была существенно
352 ниже, а IL-8, напротив, выше, чем у пациентов с ЛФ КЭ. Кроме того, у больных
353 с МФ КЭ уровни спонтанной и/или ЛПС-индуцированной наработки IL-6 и
354 TNF- α либо не имели статистически значимых различий, либо оказались ниже
355 соответствующих контрольных значений, что также свидетельствует об
356 угнетении функциональной активности клеток. Напротив, в группе пациентов
357 с ЛФ КЭ уровни спонтанной и/или ЛПС-индуцированной продукции IL-1 β , IL-
358 6, MCP-1 и TNF- α были значительно выше, чем у здоровых лиц. При этом
359 спонтанная секреция иммуносупрессорного цитокина IL-10 у пациентов обеих
360 групп существенно превышала таковую в контроле. Независимо от
361 клинической формы у пациентов с КЭ в крови выявлено существенное
362 снижение по сравнению с условно-здоровыми донорами относительного
363 числа лимфоцитов, относительного и абсолютного числа Т-цитотоксических
364 клеток. У больных с МФ КЭ отмечалось статистически значимое повышение
365 числа нейтрофилов в гемограмме, снижение относительного и абсолютного
366 количества НК-клеток по сравнению с больными с более легко протекающей
367 ЛФ КЭ. По-видимому, развитие МФ у больных острым КЭ ассоциировано с
368 более выраженной дисрегуляцией иммунного ответа, приводящей к дефициту
369 НК-клеток, количественному дисбалансу субпопуляций Т-лимфоцитов,
370 увеличению числа нейтрофилов в периферической крови и подавлению
371 продукции провоспалительных цитокинов, ответственных за реакции
372 врожденного иммунитета.

373 Благодарности

374 Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №
375 22-15-20010, <https://rscf.ru/project/22-15-20010/> и средств Администрации
376 Томской области.

377 The study was supported by the grant of the Russian Science Foundation No.
378 22-15-20010, <https://rscf.ru/project/22-15-20010/> and the Tomsk Region
379 Administration.

380 **Конфликт интересов**

381 Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

382 **Conflict of interests**

383 The authors declare that there is no conflict of interest.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Результаты оценки спонтанной и липополисахарид-стимулированной продукции цитокинов в культуре моноклеарных лейкоцитов периферической крови больных с лихорадочной и менингеальной формами клещевого энцефалита в начале болезни и в динамике через две 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-1β	сп. пг/мл sp. I, pg/ml	I , 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. пг/мл sp. II, pg/ml	II , 322,9 (294,3; 334,0) p ₁ <0,001	25,4 (6,50; 281,8) p ₁ =0,044	
	ст. пг/мл st. I, pg/ml	I , 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. пг/мл st. II, pg/ml	II , 357,6 (348,4; 369,6) p ₁ <0,001	350,5 (340,6; 378,5) p ₁ <0,001	

	st.II, pg/ml			
	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	I, 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	II, 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	I, 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	II, 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	I, 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	154,8 (94,4; 178,7) $p_3=0,009$	403,6 (375,8; 430,3) $p_1<0,001$	
	sp. II, pg/ml		$p_2<0,001$	
	ст. I, пг/мл	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	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	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	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	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	1870,5 (1658,0; 2034,0) $p_1<0,001$	2130,5(1639,0;3129,0) $p_1<0,001$	

		$p_3=0,002$		
	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) $p_2<0,001$	
TNF-α	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) $p_1=0,015$

сп.	II,	66,0 (30,9; 95,9)	12,3 (7,51; 15,1)	
пг/мл		$p_1 < 0,001$	$p_2 < 0,001$	
sp.	II,		$p_3 = 0,012$	
pg/ml				
ст.	I,	128,2 (67,9; 229,7)	112,2 (96,5; 135,0)	63,8 (43,5; 111,4)
пг/мл		$p_1 = 0,043$		
st.I, pg/ml				
ст.	II,	153,3 (53,1; 248,0)	143,2 (140,1; 149,8)	
пг/мл		$p_1 = 0,031$	$p_1 = 0,018$	
st.II, pg/ml				
ИС I		2,22 (1,67; 12,0)	7,49 (2,51; 10,4)	8,81 (3,62; 23,1)
ratio I		$p_1 = 0,019$		
ИС II		2,10 (1,71; 2,58)	11,6 (9,4; 37,5)	
ratio II			$p_2 < 0,001$	

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 две недели, критерий Вилкоксона.

Note: bas. – 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.

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, $\times 10^9/\text{л}$	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, $\times 10^9/\text{л}$	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, $\times 10^9/\text{л}$	1,38 (1,18; 1,44) $p_1=0,031$	2,03 (0,98; 2,40)	2,08 (1,45; 2,18)
CD3 ⁺ CD19 ⁻ , %	66,8 (53,5; 79,7) $p_1=0,021$	73,8 (67,5; 86,1)	80,3 (78,2; 82,0)

CD3 ⁺ CD19 ⁻ , ×10 ⁹ /л	0,94 (0,29; 1,09) p ₁ =0,035	1,33 (0,75; 1,96)	1,70 (1,09; 1,71)
CD19 ⁺ CD3 ⁻ , %	2,90 (1,50; 12,7)	9,75 (7,59; 15,68)	9,07 (8,97; 9,80)
CD19 ⁺ CD3 ⁻ , ×10 ⁹ /л	0,07 (0,01; 0,17)	0,22 (0,09; 0,31) p ₂ =0,030	0,16 (0,14; 0,19)
CD3 ⁻ CD56 ⁺ CD45 ⁺ , %	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 ⁻ CD56 ⁺ CD45 ⁺ , 10 ⁹ /л	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 ⁺ CD8 ⁺ CD45 ⁺ , %	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 ⁺ CD8 ⁺ CD45 ⁺ , ×10 ⁹ /л	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 ⁺ CD4 ⁺ CD45 ⁺ , %	49,5 (36,2; 58,5)	58,2 (46,5; 69,1)	49,3 (47,3; 51,1)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45 ⁺ , 10 ⁹ /л	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⁺CD19⁻ – Т-лимфоциты; CD19⁺CD3⁻ – В-лимфоциты; CD3⁻CD56⁺CD45⁺ – NK-клетки; CD3⁺CD4⁺CD45⁺ – Т-хелперы/индукторы; CD3⁺CD8⁺CD45⁺ – Т-цитотоксические лимфоциты; ИС – индекс соотношения (Т-хелперов к Т-цитотоксическим лимфоцитам); p₁ – уровень значимости различий при сравнении с параметров между больными и здоровыми донорами, U-критерий Манна–Уитни; p₂ – уровень значимости различий при сравнении с параметров между больными с лихорадочной и менингеальной формами клещевого энцефалита, U-критерий Манна–Уитни.

Note: WBC – leukocytes; NEUT – neutrophils; LYMP – lymphocytes; CD3⁺CD19⁻ – T lymphocytes; CD19⁺CD3⁻ – B lymphocytes; CD3⁻CD56⁺CD45⁺ – NK cells; CD3⁺CD4⁺CD45⁺ – T helper/inducer cells; CD3⁺CD8⁺CD45⁺ – T-cytotoxic lymphocytes; ratio – T-helper to T-cytotoxic cells ratio; p₁ – a significance level for differences while comparing parameters between patients and healthy donors, Mann-Whitney U-test; p₂ – a significance level for differences while comparing parameters between patients with febrile and meningeal tick-borne encephalitis, Mann-Whitney U-test.

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Ильинских Екатерина Николаевна – д.м.н., доцент, профессор кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России;

адрес: 634050, Россия, г. Томск, Московский тракт, 2, ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России;

телефоны: 8(3822)41-98-28 (раб); 8(903)954-88-17;

e-mail: infconf2009@mail.ru

Ekaterina N. Ilyinskikh – DSc (Medicine), Assistant Professor, Professor of the Division of Infectious Diseases and Epidemiology, Siberian State Medical University;

address: 634050, Russian Federation, Tomsk, Moskovsky trakt, 2, Siberian State Medical University;

telephones: 8(3822)41-98-28 (раб); 8(903)954-88-17;

e-mail: infconf2009@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Воронкова О.В., д.м.н., доцент, зав. кафедрой биологии и генетики, ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;

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

Решетова А.В., аспирант кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии, ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;

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

Хасанова Р.Р., к.м.н., доцент кафедры биологии и генетики, ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;

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

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

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

Чернышов Н.А., аспирант кафедры биологии и генетики, ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;

Chernyshov N.A., PhD student of the Division of Biology and Genetics, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

Ямпольская О.В., студент, ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;

Yampolskaya O.V., Student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

Ямпольская А.В., студент, ФГБОУ ВО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск, Россия;

Yampolskaya A.V., Student, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation;

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

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

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

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

Блок 3. Метаданные статьи

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

EVALUATING LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS IN THE PERIPHERAL BLOOD AND LIPOPOLYSACCHARIDE-INDUCED CYTOKINE SECRETION ACTIVITY IN THE MONONUCLEAR LEUKOCYTE CULTURES OF PATIENTS WITH FEBRILE AND MENINGEAL FORMS OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ИММУННЫЙ ОТВЕТ ПРИ КЛЕЩЕВОМ ЭНЦЕФАЛИТЕ
IMMUNE RESPONSE IN TICK-BORNE ENCEPHALITIS

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

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

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 14, количество таблиц – 2, количество рисунков – 0.

27.04.2024

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Номер ссылк и	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или DOI
1.	Аитов К.А., Бурданова Т.М., Верхозина М.М., Демина Т.В., Джюев 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., Verkhozina M.M., Demina T.V., Dzhioev Yu.P., Kozlova I.V., Lemeshevsckaya 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. <i>Infectious Diseases: News, Opinions, Training</i> , 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:	Ierusalimsky A.P. <i>Tick-borne encephalitis. Manual for physicians</i> . Novosibirsk: State	URL: https://library.ngmu.ru/search/view?mfn=206&irbisBase=M

	Государственная медицинская академия МЗ РФ, 2001. 360 с.	medical academy publishers, 2001. 360 p. (<i>In Russ.</i>)	AIN&ysclid=lv82s76y9h8246 12927
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. <i>Medical immunology</i> , 2012, vol. 14, no. 4-5, pp. 313–320. (<i>In Russ.</i>)	URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=17918234
4.	Мерфи К., Уивер К. Иммунобиология по Джанвэю. под ред. Игнатъевой Г.А., Свитич О.А., Дьякова И.Н. М.: Логосфера, 2020. 1184 с.	Murphy K., Weaver C. <i>Janeway's Immunology</i> . Ed. Ignat'eva G.A., Svitich O.A., D'yakova I.N. Moscow: Logosfera, 2020. 1184 p. (<i>In Russ.</i>)	URL: https://www.logobook.ru/prod_show.php?object_uid=15126998&ysclid=lv82qc6izh886387957

5.	Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика. под ред. Леонова В.П. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2021. 232 с.	Petrie A., Sabin K. <i>Medical statistics at a glance</i> . Ed. Leonov V.P. Moscow: GEOTAR-Media, 2021. 232 p. (In Russ.)	URL: https://www.labirint.ru/books/780903/
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. <i>Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Ural'skiy region = News of higher educational institutions. Ural region</i> , 2013, no. 2, pp. 138–144. (In Russ.)	URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=19009613
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	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. <i>Medical parasitology and parasitic diseases</i> , 2014, no. 2, pp. 25–29. (In Russ.)	URL: https://elibrary.ru/item.asp?id=23407228

	паразитология и паразитарные болезни. 2014. № 2. С. 25–29.		
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., Roupael N., Peiris M., Pulendran B. Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. <i>Science</i> , 2020, vol. 369, no. 6508, pp. 1210–1220.	—	<i>doi:</i> <i>10.1126/science.abc6261</i>
9.	Björkström N.K., Strunz B., Ljunggren H.G. Natural killer cells in antiviral immunity. <i>Nat.</i>	—	<i>doi:</i> <i>10.1038/s41577-021-00558-3</i>

	<i>Rev. Immunol., 2022, vol. 22, no. 2, pp.112–123.</i>		
10.	Blom K., Braun M., Pakalniene J., Lunemann S., Enqvist M., Dailidyte L., Schaffer M., Lindquist L., Mickiene A., Michaëlsson J., Ljunggren H.G., Gredmark-Russ S. NK Cell responses to human tick-borne encephalitis virus infection. <i>J. Immunol., 2016, vol. 197, no. 7, pp. 2762–2771.</i>	—	<i>doi:</i> <i>10.4049/jimmunol.1600950</i>
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. <i>Front. Immunol., 2018, no. 9, pp. 2174.</i>	—	<i>doi:</i> <i>10.3389/fimmu.2018.02174</i>

12.	<p>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. <i>Emerg. Microbes Infect.</i>, 2022, vol. 11, no. 1, pp. 1647–1656.</p>	—	<p>doi: 10.1080/22221751.2022.2086070</p>
13.	<p>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. <i>Microorganisms</i>, 2019, vol. 7, no. 11, pp. 514.</p>	—	<p>doi: 10.3390/microorganisms7110514</p>
14.	<p>Ciesielska A., Matyjek M., Kwiatkowska K. TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling.</p>	—	<p>doi: 10.1007/s00018-020-03656-y</p>

	<i>Cell. Mol. Life Sci.</i> , 2021, vol. 78, no. 4, pp. 1233–1261.		
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. <i>Front. Immunol.</i> , 2020, no.11, pp. 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. <i>Viral Immunol.</i> , 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. <i>Mediators Inflamm.</i> , 2023, pp. 2899271.	—	doi: 10.1155/2023/2899271

18.	Lindqvist R., Upadhyay A., Överby A.K. Tick-borne Flaviviruses and the type I interferon response. <i>Viruses</i> , 2018, vol. 10, no. 7, pp. 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. <i>J</i> <i>Viro.</i> , 2021, vol. 95, no. 3, pp. e01753-20.	—	doi: 10.1128/JVI.01753-20
20.	Mathew A. Defining the role of NK cells during dengue virus infection. <i>Immunology</i> , 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. <i>Front. Cell. Infect. Microbiol.</i> , 2022, no. 12, pp. 975222.	—	doi: 10.3389/fcimb.2022.975222

22.	Sharma K.B., Chhabra S., Kalia M. Japanese encephalitis virus-infected cells. <i>Subcell. Biochem.</i> 2023, no. 106, pp. 251–281.	—	doi: 10.1007/978-3-031-40086-5_10
23.	Zidovec-Lepej S., Vilibic-Cavlek T., Ilic M., Gorenc L., Grgic I., Bogdanic M., Radmanic L., Ferenc T., Sabadi D., Savic V., Hruskar Z., Svitek L., Stevanovic V., Peric L., Lisnjic D., Lakoseljac D., Roncevic D., Barbic L. Quantification of antiviral cytokines in serum, cerebrospinal fluid and urine of patients with tick-borne encephalitis in Croatia. <i>Vaccines (Basel)</i> , 2022, vol. 10, no. 11, pp. 1825.	—	doi: 10.3390/vaccines10111825