

IgG-АНТИТЕЛА К ИНДИВИДУАЛЬНЫМ БЕЛКАМ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСА И СУБПОПУЛЯЦИОННЫЙ СОСТАВ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРЕДНИМИ УВЕИТАМИ РАЗНОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ



Г.И. Кричевская¹, Н.В. Балацкая¹, Г.И. Алаторцева², Е.С. Сорожкина¹, Л.А. Ковалева¹, И.Г. Куликова¹, В.В. Доценко², Л.Н. Нестеренко², Л.Н. Лухверчик²

¹ ФГБУ НИИЦ глазных болезней им. Гельмгольца Минздрава России, Москва, Россия

² ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия

Резюме. *Актуальность.* Цитомегаловирус (CMV), β -герпесвирус человека, после попадания в организм человека пожизненно персистирует в латентной форме. Возникающая периодически реактивация CMV может вызывать заболевание разных органов, включая глаз, не только при иммуносупрессии, но и у иммунокомпетентных людей. Благодаря своим иммуносупрессивным свойствам персистирующий CMV участвует в патогенезе заболеваний разной этиологии. Целью данного исследования было изучение особенностей антителообразования к шести индивидуальным белкам CMV и проведение корреляционного анализа его взаимосвязи с показателями субпопуляционного состава лимфоцитов крови у пациентов с передними увеитами разной степени тяжести (без гипопиона — легкое течение, с гипопионом — более тяжелое течение). *Материалы и методы.* Обследовано 36 пациентов с передними увеитами. I группу составили 20 пациентов без гипопиона, II группу — 16 человек с гипопионом. Патогномичные для ЦМВ-обусловленных передних увеитов клинические симптомы (глаукомо-циклитические кризы, секторальная атрофия радужки) отсутствовали. В сыворотках крови в иммуноферментном анализе определяли IgG-антитела к CMV (маркеры хронической инфекции), в линейном иммуноанализе — антитела к индивидуальным рекомбинантным антигенам CMV: основному неструктурному предраннему белку (IE), ДНК-связывающему фосфопротеину p52, фосфопротеинам тегумента p150, p65, p28, гликопротеину оболочки GB-AD. Методом проточной цитометрии исследовали субпопуляционный состав лимфоцитов: Т-лимфоциты (CD3⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD8⁻), Т-цитотоксические (CD3⁺CD4⁻CD8⁺), Т-дубль-позитивные (CD3⁺CD4⁺CD8⁺), натуральные киллеры (CD16⁺CD56⁺), В-лимфоциты (CD19⁺), иммунорегуляторный индекс (CD4⁺/CD8⁺). Статистический анализ проводили с помощью программы StatTech v. 3.0.2 (ООО «Статтех», Россия). *Результаты.* При передних увеитах легкого течения обнаружено статистически значимое повышение относительного содержания CD16⁺CD56⁺ и снижение абсолютного числа CD3⁺CD8⁺ по сравнению с передними увеитами более тяжелого

Адрес для переписки:

Кричевская Галина Исааковна
105062, Россия, Москва, ул. Садовая-Черногрозская, 14/19,
ФГБУ НИИЦ глазных болезней им. Гельмгольца
Минздрава России.
Тел.: 8 (495) 624-57-13 (служебн.), 8 985 191-92-34 (моб.).
E-mail: gkri@yandex.ru

Contacts:

Galina I. Krichevskaya
105062, Russian Federation, Moscow, Sadovaya-
Chernogryazskaya str., 14/19., Helmholtz National Medical Research
Center of Eye Diseases.
Phone: +7 (495) 624-57-13 (office), +7 985 191-92-34 (mobile).
E-mail: gkri@yandex.ru

Для цитирования:

Кричевская Г.И., Балацкая Н.В., Алаторцева Г.И., Сорожкина Е.С., Ковалева Л.А., Куликова И.Г., Доценко В.В., Нестеренко Л.Н., Лухверчик Л.Н. IgG-антитела к индивидуальным белкам цитомегаловируса и субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у пациентов с передними увеитами разной степени тяжести // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 4. С. 699–708. doi: 10.15789/2220-7619-IAT-8875

Citation:

Krichevskaya G.I., Balatskaya N.V., Alatorceva G.I., Sorozhkina E.S., Kovaleva L.A., Kulikova I.G., Dotsenko V.V., Nesterenko L.N., Lukhverchik L.N. IgG-antibodies to individual cytomegalovirus proteins and the peripheral blood lymphocyte subset profile in patients with anterior uveitis of varying severity // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 4, pp. 699–708. doi: 10.15789/2220-7619-IAT-8875

течения. Только в группе пациентов с наличием гипопиона (более тяжелое течение) выявлена прямая корреляционная заметная достоверная связь между уровнями антител к антигенам IE, p65, p28 и содержанием дубль-позитивных клеток ($CD3^+CD4^+CD8^+$) и обратная достоверная связь между уровнями антител к антигенам IE, p65 и p52 и $CD19^+$ лимфоцитами. **Заключение.** Полученные результаты согласуются с имеющимися в литературе единичными сообщениями о роли дубль-позитивных лимфоцитов в патогенезе тяжелых форм ряда вирусных заболеваний. Необходимы дальнейшие исследования влияния индивидуальных вирусных антигенов на содержание $CD3^+CD4^+CD8^+$ у пациентов с хронической ЦМВИ для подтверждения роли дубль-позитивных лимфоцитов в патогенезе более тяжелого течения передних увеитов.

Ключевые слова: антигены ЦМВ, субпопуляции лимфоцитов, дубль-позитивные лимфоциты, передние увеиты, линейный иммуноанализ, гипопион.

IgG-ANTIBODIES TO INDIVIDUAL CYTOMEGALOVIRUS PROTEINS AND THE PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTE SUBSET PROFILE IN PATIENTS WITH ANTERIOR UVEITIS OF VARYING SEVERITY

Krichevskaya G.I.^a, Balatskaya N.V.^a, Alatorseva G.I.^b, Sorozhkina E.S.^a, Kovaleva L.A.^a, Kulikova I.G.^a, Dotsenko V.V.^b, Nesterenko L.N.^b, Lukhverchik L.N.^b

^a Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation

^b I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation

Abstract. *Background.* Cytomegalovirus (CMV), a human beta-herpesvirus, persists latently lifelong after infection. CMV reactivation that occurs periodically can cause disease in target organs including the eye, not only in immunosuppressed, but also in immunocompetent people. Due to its immunosuppressive properties, persistent CMV is involved in the pathogenesis of diverse diseases. The aim was to study the features of antibody formation against six individual CMV proteins and to conduct a correlation analysis with parameters of peripheral blood lymphocyte profile in patients with anterior uveitis of varying severity (without hypopion-mild course, with hypopion-more severe course). *Materials and methods.* 36 patients with anterior uveitis were examined. Group I consisted of 20 patients without hypopion, group II — 16 people with hypopion. No characteristic features of CMV anterior uveitis (elevated intraocular pressure, stromal iris atrophy) were found. Blood serum anti-CMV IgG antibodies (markers of chronic infection) were measured by ELISA, antibodies against individual recombinant CMV antigens were assessed by Line-Immunoassay specific to the main non-structural immediate early protein (IE), DNA-binding phosphoprotein p52, phosphoproteins of the tegument p150, p65, p28, GB-AD envelope glycoprotein. Lymphocyte subset composition was studied by flow cytometry: T-lymphocytes ($CD3^+$), T-helper cells ($CD3^+CD4^+CD8^-$), T-cytotoxic ($CD3^+CD4^-CD8^+$), T-double-positive ($CD3^+CD4^+CD8^+$), natural killers ($CD16^+CD56^+$), B-lymphocytes ($CD19^+$). Statistical analysis was performed using StatTech v. 3.0.2 program (Stattech LLC, Russia). *Results.* In mild anterior uveitis, there was observed a significantly increased percentage of $CD16^+CD56^+$ and a decreased absolute number of $CD3^+CD8^+$ compared with anterior uveitis of a more severe course. Only in the group of patients with hypopion (more severe course) there was a direct significant correlation between level of antibodies against IE, p65, p28 antigens and percentage of double-positive cells ($CD3^+CD4^+CD8^+$) as well as an negative significant relationship between the level of antibodies against IE, p65 and p52 antigens and $CD19^+$ lymphocytes. *Conclusion.* The data obtained are consistent with few reports on the role of double-positive lymphocytes in the pathogenesis of severe forms of some viral diseases. Further studies are needed to assess an effect of individual viral antigens on $CD3^+CD4^+CD8^+$ level in patients with chronic CMV infection to confirm the role of double-positive lymphocytes in the pathogenesis of a more severe course of anterior uveitis.

Key words: CMV antigens, lymphocyte subpopulations, double positive lymphocytes, anterior uveitis, line-immunoassay, hypopion.

Введение

Увеиты — заболевания сосудистой оболочки глаза, различающиеся по этиологии (инфекционные, неинфекционные), локализации (передние, периферические, задние, генерализованные), активности и тяжести. При переднем увеите (ПУ) интраокулярное воспаление локализуется в радужке и цилиарном теле. Одним из показателей тяжести ПУ является наличие в передней камере глаза клеточного экссудата — гипопиона, состоящего в основном из лейкоцитов.

Вирусы герпеса человека (ВГЧ), в частности цитомегаловирус (CMV), играют важную

роль в этиологической структуре инфекционных ПУ, причем преобладают увеиты, вызванные не первичной инфекцией, а реактивацией пожизненно персистирующего в организме вируса [6].

Устанавливаемая после первичного заражения пожизненная персистенция ВГЧ в клетках инфицированного хозяина — результат сложных взаимоотношений между иммунной системой человека и вирусом: с одной стороны, она связана со способностью вируса уклоняться от иммунного надзора хозяина, а с другой, с возможностью иммунной системы ограничивать литическую фазу инфекции [14].

CMV — самый крупный из вирусов герпеса человека, известно более 200 разных белков, участвующих в его жизненном цикле. Наиболее активно изучаются предранние белки, иницирующие литическую фазу инфекции, фосфопротеины тегумента (аморфного белкового слоя, расположенного между нуклеокапсидом и наружной оболочкой-суперкапсидом), участвующие в разных стадиях репликативного цикла, гликопротеины суперкапсида, облегчающие проникновение вируса во все типы клеток и его межклеточное распространение [13].

Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) у иммунокомпетентных лиц характеризуется динамичным взаимодействием вируса с иммунной системой хозяина на протяжении всей жизни, при этом иммунная система, особенно Т-лимфоциты, сдерживают репликацию вируса и развитие заболевания, но не элиминируют вирус и не предотвращают его передачу другому человеку [14, 15].

Проведенное Vescovini R. и соавт. [15] с интервалом в 5 лет обследование здоровых доноров показало достоверное увеличение уровня IgG-антител к CMV и количества специфических CD8⁺ клеток памяти. Авторы полагают, что даже при отсутствии клинических признаков заболевания CMV модулирует состав иммунокомпетентных клеток за счет увеличения специфических клеток памяти.

Оппортунистический характер ЦМВИ проявляется в склонности к реактивации под влиянием различных экзо- и эндогенных факторов, в частности заболеваний другой этиологии, не только в условиях иммуносупрессии, но и у иммунокомпетентных лиц.

В последнее время обсуждается роль CMV в патогенезе неинфекционных увеитов.

Длительное время напряженность клеточного и гуморального иммунитета к CMV исследовали с использованием лизатов инфицированных клеток или смеси разных вирусных белков. Sylwester A.W. и соавт. [14] изучили иммуногенность пептидов, кодируемых 213 открытыми рамками считывания (ОРС) CMV, и выявили, что продукты 151 ОРС были иммуногенными для CD4⁺ и/или CD8⁺ Т-клеток. Причем у серопозитивных людей общий ответ популяции CMV-специфичных Т-лимфоцитов формировал приблизительно 10% CD4⁺ и/или CD8⁺ Т-клеток памяти периферической крови. Проанализировав литературу, авторы заключили, что у здоровых серопозитивных людей частота выявления CMV-специфичных CD4⁺ и/или CD8⁺Т-лимфоцитов значительно превышала частоту, обнаруживаемую при инфицировании такими распространенными вирусами, как вирусы кори, эпидемического паротита, гриппа, аденовирусами, поксвирусами и даже

другими вирусами герпеса человека (вирус простого герпеса, вирус варицелла зостер).

Активное участие индивидуальных белков CMV в репликации вируса, их высокая иммуногенность вызывают интерес к роли каждого из них в иммунопатогенезе заболеваний разной этиологии.

По данным Kern F. и соавт. [9], у 40 здоровых серопозитивных к CMV доноров частота специфического ответа CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов периферической крови на иммунодоминантный антиген (АГ) р65 различалась: у 63% выявлен специфический ответ CD4⁺ Т-лимфоцитов, а у 83% — CD8⁺ Т-лимфоцитов.

Цель настоящего исследования — изучить особенности антителообразования к шести индивидуальным белкам CMV и провести корреляционный анализ с показателями субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у пациентов с ПУ, протекающими с гипопионом и без него.

Материалы и методы

36 пациентов с ПУ по результатам офтальмологического обследования разделили на 2 группы: 1 группа — ПУ без гипопиона (20 пациентов, средний возраст 42,9±14,6 год), 2 группа — ПУ с гипопионом (16 пациентов, средний возраст 41,6±13,9 год). Преобладали пациенты с увеитами, вызванными вирусом простого герпеса, реже — с ревматоидными увеитами. У всех 36 пациентов отсутствовали клинические симптомы, патогномоничные для ПУ ЦМВ-этиологии. Материалом для иммунологических исследований послужили образцы сывороток крови.

Иммуноферментный анализ (ИФА). При первом обращении у пациентов брали кровь из локтевой вены, сыворотку крови (СК) разливали на аликвоты, хранили до исследования при Т –20°С. СК исследовали в ИФА на наличие IgM- и IgG-антител к структурным поздним антигенам CMV (серологические маркеры первичной и хронической ЦМВИ соответственно). Использовали наборы реагентов «ВектоЦМВ-IgM» и «ВектоЦМВ-IgG» (Вектор-Бест, Россия). IgG-антитела к основному предраннему неструктурному белку вируса-IE (маркеры реактивации хронической ЦМВИ) исследовали с тест-системой «БиоСет-актив-ЦМВ (Биосервис, Россия). ИФА проводили на автоматическом анализаторе «Лазурит» (США) в соответствии с инструкцией производителя тест-систем. Результат ИФА учитывали по разнице оптической плотности (ΔОП) исследуемой и контрольной отрицательной сыворотки.

Линейный иммуноанализ (ЛИА). IgG-антитела в СК к индивидуальным рекомбинантным АГ CMV определяли методом линейного иммуно-

анализа (ЛИА) одновременно с постановкой ИФА. Рекомбинантные АГ CMV были получены в НИИВС им. И.И. Мечникова и содержали только высокоспецифичные для CMV белковые фрагменты вирусных антигенов (р): основной неструктурный предранний белок IE (IE), неструктурный предранний ДНК-связывающий белок p52 (p52), иммунодоминантные белковые фрагменты фосфопротеинов тегумента p150, p65, p28 и гликопротеина оболочки GB-AD [3].

Рекомбинантные АГ IE, p65, p160, p52, p28, AG-BD сорбировали на нитроцеллюлозных стрипах в виде индивидуальных линий. Отрицательным контрольным антигеном служила β -галактозидаза *E. coli*, для контроля правильности проведения реакции использовали иммунную сыворотку к IgG-человека. Комплекс «антитело–АГ» выявляли с помощью конъюгата моноклональных антител мыши к IgG-человека, конъюгированных с пероксидазой хрена.

Результаты оценивали визуально по интенсивности окраски линий в месте нанесения каждого антигена в сравнении с положительным и отрицательным контролем и выражали в условных единицах, «плюсах» (+). Отсутствие окрашивания линии учитывали как отрицательный результат (–); очень слабое окрашивание — сомнительный результат (\pm); слабое окрашивание — слабopоложительный результат (1+); умеренное окрашивание — положительный результат (2+); интенсивное окрашивание — сильноположительный результат (3+) [3].

Проточная цитометрия. Методом проточной цитометрии в цельной крови определяли относительное (%) и абсолютное содержание (а.с.) субпопуляций Т-лимфоцитов (CD3⁺), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺CD8⁻), Т-цитотоксических клеток (CD3⁺CD4⁻CD8⁺), дубль-позитивных Т-лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺CD8⁺), НК-клеток (CD16⁺CD56⁺), В-лимфоцитов (CD19⁺), рассчитывали иммунорегуляторный индекс CD4⁺/CD8⁺ (ИРИ). Кровь брали в пробирки Vacuette® с антикоагулянтом KSEDTA. Состав лимфоцитов оценивали методом лазерной проточной цитофлуориметрии (цитометр BD FACSCantoll, США). Содержание субпопуляций определяли в программе Santo (Vecton Dickinson, США) с выделением региона по общей популяции, экспрессирующей CD45⁺ антиген, и по гранулярности клеток (CD45⁺PerCP-Cy5⁺/SSC) при помощи меченных флуорохромами антител к CD3⁺ (FITC), CD4⁺(PE-Cy7⁺), CD8⁺(APC-Cy7⁺), позволяющих дифференцировать клетки: Т-лимфоциты (CD3⁺), Т-хелперы (CD3⁺CD4⁺CD8⁻), Т-цитотоксические (CD3⁺CD4⁻CD8⁺), Т-«дубль-позитивные» (CD3⁺CD4⁺CD8⁺), натуральные киллеры (CD16⁺CD56⁺), В-лимфоциты (CD19⁺), иммунорегуляторный индекс (CD4⁺/CD8⁺).

Статистический анализ. Использовали программу StatTech v. 3.0.2 (разработчик — ООО «Статтех», Россия).

Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро–Уилка (при числе исследуемых менее 50) или критерия Колмогорова–Смирнова (при числе исследуемых более 50). Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывались с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала (95% ДИ). В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывались с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q₁–Q₃).

Сравнение двух групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, при условии равенства дисперсий, выполнялось с помощью t-критерия Стьюдента. Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполнялось с помощью U-критерия Манна–Уитни.

Направление и теснота корреляционной связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена (при распределении показателей, отличном от нормального).

Прогностическая модель, характеризующая зависимость количественной переменной от факторов, разрабатывалась с помощью метода линейной регрессии.

Качественную оценку тесноты связи двух показателей оценивали по значению коэффициента корреляции (r) с помощью шкалы Чеддока: слабая — $0,1 < r < 0,3$; умеренная — $0,3 \leq r < 0,5$; заметная — $0,5 \leq r < 0,7$; высокая — $0,7 \leq r < 0,9$; весьма высокая — $0,9 \leq r < 1,0$. Направление связи: прямая (+) и обратная (–). Определяли также достоверность выявленного коэффициента корреляции ($p < 0,05$).

Результаты

Серологический анализ (ИФА). IgG-антитела к поздним структурным антигенам CMV выявили у 36 (100%) пациентов обеих групп, что свидетельствовало о наличии у них хронической ЦМВ-инфекции (ХЦМВИ). Уровни IgG-антител к пулу поздних антигенов у отдельных больных в обеих группах колебались от 0,9 до > 3,5 ΔОП, средние показатели в обеих группах существенно не отличались ($p > 0,05$). Слабopоложительные серологические маркеры реактивации ХЦМВИ (IgG-антитела к IE-антигену) обнаружены у 3 из 20 (15%) пациентов 1 группы и у 2 из 16 (12,5%) пациентов 2 группы ($p > 0,05$).

Продукция IgG-антител к индивидуальным рекомбинантным АГ CMV у пациентов обеих групп (ЛИА). Частота выявления и средние уровни (медиана) IgG-антител к каждому из исследованных индивидуальных АГ CMV в обеих группах также достоверно не отличалась ($p > 0,05$) (табл. 1 и 2).

Особенности субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у пациентов 1 и 2 групп. Обнаружено статистически значимое снижение абсолютного количества Т-цитотоксических клеток CD3⁺CD8⁺ ($p = 0,033$) и тенденция к снижению их процентного содержания ($p = 0,059$), достоверное повышение процентного содержания натуральных киллеров CD16⁺CD56⁺ ($p = 0,023$), повышение регуля-

торного индекса ($p = 0,033$) в группе 1 (ПУ без гипопиона) по сравнению с группой 2 (ПУ с гипопионом) (табл. 3).

Корреляционный анализ абсолютного и относительного содержания различных субпопуляций лимфоцитов в периферической крови с уровнем антител к отдельным рекомбинантным АГ CMV выявил некоторые отличия в группе пациентов с ПУ без гипопиона и с его наличием (табл. 4).

В группе 1 у пациентов с ПУ без гипопиона выявлена умеренная прямая достоверная ($r = 0,472$; $p = 0,036$) корреляционная связь между уровнем антител к IE-антигену CMV и абсолютным количеством CD45⁺-лимфоцитов и тенденция

Таблица 1. Частота выявления IgG-антител (интенсивность окрашивания линии 1+, 2+, 3+) к рекомбинантным вирусным антигенам у CMV-серопозитивных пациентов с передними увеитами без и с наличием гипопиона (линейный иммуноанализ)

Table 1. Detection rate of IgG antibodies (bands 1+, 2+, 3+) against CMV recombinant antigens in CMV-seropositive patients with anterior uveitis without and with hypopyon (Line Immunoassay)

Передний увеит Anterior uveitis	Всего обследовано Total examined	Антигены ЦМВ CMV antigens					
		IE n (%)*	p150 n (%)	p52 n (%)	p65 n (%)	p28 n (%)	GB-AD n (%)
Без гипопиона Without hypopyon	20	3 (15)	18 (90)	11 (55)	17 (85)	15 (75)	7 (35)
С гипопионом With hypopyon	16	2 (12,5)	14 (87,5)	10 (62,5)	15 (94)	11 (68,8)	9 (56)
p		> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Примечание. *n (%) — число пациентов (%), серопозитивных к данному рекомбинантному антигену; ** $p < 0,05$ — достоверность отличия показателей между двумя группами ПУ.

Note. n (%) — number (%) of patients seropositive for specific recombinant antigen; ** $p < 0.05$ — significant inter-group differences in parameters.

Таблица 2. Средний уровень антител (Me) к рекомбинантным антигенам CMV в группах пациентов с передними увеитами без (I) и с наличием гипопиона (II) (линейный иммуноанализ)

Table 2. Average level of antibodies (Me) against recombinant CMV antigens in groups of patients with anterior uveitis without (I) and with hypopyon (II) (Line Immunoassay)

Антигены ЦМВ CMV-antigen	Группа передних увеитов Group of anterior uveitis	n***	Me****	Q ₁ -Q ₃ *****	p*****
IE	I*	20	0,0	0,0-0,5	0,840
	II*****	16	0,0	0,0-0,1	
p150	I	20	2,0	1,0-2,0	0,944
	II	16	2,0	1,0-2,0	
p52	I	20	1,0	0,0-1,2	0,764
	II	16	1,0	0,0-1,2	
p65	I	19	2,0	1,0-2,0	0,489
	II	16	1,0	1,0-2,0	
GB-AD	I	20	0,5	0,4-1,0	0,273
	II	16	1,0	0,5-1,0	
p28	I	20	1,0	0,9-2,0	0,252
	II	16	1,0	0,4-1,0	

Примечание. *I — группа пациентов с передними увеитами без гипопиона; **II — группа увеитов с передними увеитами с гипопионом; ***n — число пациентов; ****Me (медиана) — средний уровень антител к рекомбинантному антигену; *****Q₁-Q₃ — нижний и верхний квартиль; ***** $p < 0,05$ — статистически значимое отличие.

Note. *I — anterior uveitis without hypopyon; **II — anterior uveitis with hypopyon ***n — number of patients; ****Me (median) — average level of antibodies specific to recombinant antigen; *****Q₁-Q₃ — lower and upper quartiles; ***** $p < 0.05$ — significant difference between I and II groups of anterior uveitis

($p = 0,055$) к умеренной прямой ($r = 0,435$) корреляционной связи между уровнем антител к IE-антигену CMV и абсолютным количеством CD19. Таким образом, показано, что у пациентов с ПУ без гипопиона реактивация CMV сопровождается повышением общего количества лимфоцитов и тенденцией к повышению числа CD19 В-лимфоцитов (табл. 4).

Корреляционный анализ выявил также достоверную умеренную прямую связь между уровнем антител к АГ CMV p65 и абсолютным количеством цитотоксических CD3⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов ($r = 0,458$; $p = 0,049$), а также достоверную умеренную обратную связь между уровнем антител к p65 и процентным содержанием CD16⁺CD56⁺ ($r = -0,478$; $p = 0,038$). Повышение уровня антител к p65 достоверно коррелировало с повышением абсолютного количества цитотоксических Т-лимфоцитов

и снижением процентного содержания натуральных киллеров. Также отмечена умеренная достоверная обратная связь между уровнем антител к GB-AD и процентным содержанием натуральных киллеров ($r = -0,499$) (табл. 3).

Реакция на увеличение уровня антител к основному иммунодоминантному белку тегумента p65 и белку оболочки GB-AD заключалась в достоверном умеренном снижении процентного содержания натуральных киллеров.

Во 2 группе (ПУ с гипопионом) выявлена достоверная заметная прямая корреляционная связь между процентным содержанием дубль-позитивных лимфоцитов (CD3⁺CD4⁺CD8⁺) и уровнем антител к предраннему (IE) антигену CMV ($r = 0,566$, $p = 0,022$); абсолютным числом CD3⁺CD4⁺CD8⁺-лимфоцитов и уровнем антител к белку тегумента p65 ($r = 0,551$, $p = 0,027$), а также процентным содержанием и абсолютным чис-

Таблица 3. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у пациентов с передними увеитами без (I) и с наличием гипопиона (II)

Table 3. Peripheral blood lymphocyte subset profile in patients with anterior uveitis without (I) and with hypopion (II)

Показатель* Index	Группа Group	M±SD/Me**	95% ДИ/Q ₁ -Q ₃ ***	Обследовано человек Persons examined	P****
CD3 ⁺ , %	I	74,5	67,8–76,2	20	0,911
	II	73,0	69,5–76,5	16	
CD3 ⁺ , абс. abs.	I	1488,3±479,7	1263,8–1712,8	20	0,185
	II	1799,3±879,6	1330,5–2268,0	16	
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	I	23,3±5,8	20,5–26,0	20	0,059
	II	27,3±6,4	23,8–30,7	16	
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , абс. abs.	I	↓474,3	346,7–556,0	20	0,033****
	II	647,5	394,2–765,0	16	
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	I	48,2±8,0	44,4–51,9	20	0,129
	II	44,2±7,2	40,3–48,0	16	
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , абс. abs.	I	1007,3±413,8	813,6–1200,9	20	0,523
	II	1107,5±519,7	830,6–1384,4	16	
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , %	I	0,6	0,5–1,0	20	0,143
	II	1,0	0,8–1,3	16	
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ , абс. abs.	I	12,8	7,1–24,2	20	0,077
	II	18,5	14,0–31,0	16	
CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	I	↑13,5	10,8–15,1	20	0,023****
	II	7,8	6,9–10,3	16	
CD16 ⁺ CD56 ⁺ , абс. abs.	I	223,3	180,7–357,0	20	0,239
	II	188,0	160,0–254,3	16	
CD19 ⁺ , %	I	14,0±7,0	10,8–17,3	20	0,145
	II	17,6±7,3	13,7–21,5	16	
CD19 ⁺ , абс. abs.	I	257,5	157,2–385,2	20	0,092
	II	393,5	246,5–611,8	16	
CD45 ⁺ , абс. abs.	I	2069,3±695,6	1743,7–2394,9	20	0,189
	II	2457,0±1034,4	1905,8–3008,2	16	
CD4/CD8, абс. abs.	I	↑2,2	1,7–2,6	20	0,033****
	II	1,6	1,4–2,2	16	

Примечание. * — субпопуляции лимфоцитов; **M±SD — среднее арифметическое±стандартное отклонение/Me — медиана; ***Q₁-Q₃ — нижний и верхний квартиль; ****p < 0,05 — статистически значимые различия показателей между I и II группами.
Note. * — lymphocyte subsets; M±SD — arithmetic mean±standard deviation/Me — median; ***Q₁-Q₃ — lower and upper quartiles; ****p < 0.05 — significant difference between I and II groups of anterior uveitis.

лом CD3⁺CD4⁺CD8⁺ и уровнем антител к белку тегумента p28 ($r = 0,670$, $p = 0,005$; $r = 0,563$, $p = 0,023$, соответственно) (табл. 4).

В этой группе отмечена также достоверная заметная обратная корреляция между процентным содержанием CD19⁺ В-лимфоцитов и уровнем антител к трем рекомбинантным АГ CMV: IE ($r = -0,533$, $p = 0,033$), p52 ($r = -0,501$, $p = 0,048$), p65 ($r = 0,564$, $p = 0,023$) (табл. 3)

Обсуждение

Цитомегаловирус — самый крупный из вирусов герпеса человека, вирион которого состоит из внешней мембранозной оболочки (суперкапсида), белкового слоя, называемого тегументом, и икосаэдрического капсида, который содержит сжатый, большой (> 240 кб) геном ДНК. Попав в организм, CMV вызывает пожизненную инфекцию, реактивации которой способствуют многочисленные экзо- и эндогенные факторы, в первую очередь — иммуносупрессия.

Передний увеит — воспаление переднего отрезка увеального тракта глаза (радужки, цилиарного тела) — вызывается как инфекционными, так и неинфекционными фактора-

ми. Доказана этиологическая роль CMV при острых (протекающих с глаукомо-циклическими кризами или с секторальной атрофией радужки) и хронических формах ПУ не только в условиях иммуносупрессии, но и у иммунокомпетентных людей [6].

Среди обследованных нами пациентов типичной для CMV клинической картины ПУ не выявлено ни в одном случае, хотя все 36 (100%) пациентов были хронически инфицированы ЦМВ. Субклинические серологические маркеры реактивации CMV (IgG-антитела к IE-антигену) обнаружены у 5 (11%) из них.

Накоплено много данных, свидетельствующих о ведущей роли Т-лимфоцитов в ограничении реактивации персистирующего ЦМВ [8, 14]. Мы провели анализ субпопуляционного состава циркулирующих лимфоцитов у пациентов с ПУ в зависимости от тяжести клинического течения и от специфического гуморального ответа к 6 индивидуальным антигенам CMV.

Общий анализ среднего уровня отдельных субпопуляций лимфоцитов выявил достоверное отличие между более легким (ПУ без гипопиона) и более тяжелым течением ПУ (с гипопионом): ПУ без гипопиона характеризовался

Таблица 4. Статистически значимые корреляционные связи между уровнем антител к индивидуальным антигенам CMV и субпопуляциями лимфоцитов периферической крови у пациентов с передними увеитами без и с наличием гипопиона

Table 4. Significant correlations between level of antibodies specific to individual CMV antigens and peripheral blood lymphocyte subsets in patients with anterior uveitis without and with hypopion

Уровни антител к антигенам CMV Antibody levels to CMV antigens	Группа 1. Передние увеиты без гипопиона Group I. Anterior uveitis without hypopion		Группа 2. Передние увеиты с гипопионом Group II. Anterior uveitis with hypopion	
	Прямая умеренная связь Direct moderate correlation	Обратная умеренная связь Inverse moderate correlation	Прямая заметная связь Direct significant correlation	Обратная заметная связь Inverse significant correlation
IE	CD45 ⁺ (абс. abs.) $r = 0,472$ $p = 0,036$		CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ (%) $r = 0,566$ $p = 0,022$	CD19 ⁺ (%) $r = -0,533$ $p = 0,033$
p52				CD19 ⁺ (%) $r = -0,501$ $p = 0,048$
p65	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (абс. abs.) $r = 0,458$ $p = 0,049$	CD16 ⁺ CD56 ⁺ (%) $r = -0,478$ $p = 0,038$	CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ (абс. abs.) $r = 0,551$ $p = 0,027$	CD19 ⁺ (%) $r = -0,564$ $p = 0,023$
GB-AD		CD16 ⁺ CD56 ⁺ (%) $r = -0,499$ $p = 0,025$		
p28			CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ (%) $r = 0,670$ $p = 0,005$ CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺ (абс. abs.) $r = 0,563$ $p = 0,023$	

Примечание. абс. — абсолютное количество лимфоцитов; % — процентное содержание лимфоцитов; r — коэффициент корреляции; $p < 0,05$ статистически значимые значения для коэффициента корреляции.

Note. abs. — absolute count of lymphocytes; % — percentage of lymphocytes; r — correlation coefficient; $p < 0.05$ — significant correlation coefficient.

достоверно более высоким содержанием натуральных киллеров и более низким содержанием Т-цитотоксических клеток; в этой группе значимо повышался регуляторный индекс.

Анализ корреляционной связи между содержанием отдельных субпопуляций лимфоцитов и уровнем антител к индивидуальным антигенам CMV выявил ряд отличий между двумя группами. У пациентов с ПУ без гипопиона обнаружена достоверная умеренная обратная корреляционная связь между процентным содержанием натуральных киллеров ($CD16^+CD56^+$ (%)) в периферической крови и уровнями IgG-антител к антигенам CMV: GB-AD ($p = 0,025$) и многофункциональному антигену p65 ($p = 0,038$). НК-лимфоциты осуществляют лизис клеток, инфицированных вирусами, и участвуют в регуляции врожденного и адаптивного иммунного ответа [4, 10]. Усиление экспрессии некоторых антигенов является одним из факторов, индуцирующих выраженный иммунный ответ на них. Повышенная экспрессия доминантного иммуногенного антигена CMV p65, играющего важную роль в уклонении от иммунного надзора человека [9], и иммуногенного гликопротеина оболочки — GB-AD, облегчающего проникновение вируса во все типы клеток [13], коррелировало со снижением содержания в крови натуральных киллеров, участвующих в противовирусной защите клеток.

При повышении уровня антител к основному предраннему вирусному белку (маркером реактивации CMV), повышалось абсолютное количество лимфоцитов в крови (прямая умеренная достоверная связь, $p = 0,036$) (табл. 3), что может свидетельствовать об усилении линии противовирусной защиты организма в начале реактивации ЦМВИ. При повышении уровня антител к p65, которое можно рассматривать как свидетельство усиления экспрессии вирусного антигена, играющего важную роль в репликации CMV, напрямую повышается уровень цитотоксических лимфоцитов $CD3^+CD8^+$ ($p = 0,049$).

По-видимому, у пациентов с ПУ без гипопиона ослабление врожденного иммунного ответа компенсировалось усилением специфического клеточного ответа за счет повышения количества Т-цитотоксических лимфоцитов, что ограничивало риск развития клинической CMV-симптоматики, но не исключало более длительного и торпидного течения увеита. Полученные данные согласуются с результатами Jackson S.E. и соавт. [8], показавшими, что у серопозитивных к CMV доноров специфичные к ЦМВ $CD8^+$ Т-лимфоциты обладают высокой антивирусной активностью и могут преодолевать имеющиеся у вируса механизмы уклонения от иммунного ответа хозяина.

Ряд исследователей полагает, что CMV даже в отсутствии клинических признаков заболевания модулирует состав иммунокомпетентных клеток, увеличивая количество клеток памяти, специфичных для CMV [9].

В группе II пациентов ПУ протекал тяжелее, с наличием клеточного экссудата в передней камере глаза — гипопиона. В этой группе выявлена достоверная заметная прямая корреляция продукции антител на несколько индивидуальных антигенов CMV и содержанием в крови (процентным и/или абсолютным) малой субпопуляции лимфоцитов — дубль-позитивных клеток ($CD3^+CD4^+CD8^+$): уровень антител к IE коррелировал с их процентным содержанием, к антигену p65 — с абсолютным количеством; к p28 — с их абсолютным числом и процентным содержанием. Фосфопротеин тегумента pp28, наряду с pp65, активно участвует на разных стадиях репликации ЦМВ, в частности при внутриклеточной передаче вируса и при выходе вириона из клетки [9,11].

Мембранные молекулы $CD4^+$ и $CD8^+$ являются основными рецепторами для Т-хелперов и Т-цитотоксических лимфоцитов. Полагали, что одновременная экспрессия обеих молекул на мембране Т-лимфоцитов происходит только на этапе селекции в тимусе. Дубль-позитивные $CD3^+CD4^+CD8^+$ Т-лимфоциты у человека впервые обнаружили Blue M.L. и др. в 1986 г. [5], и первоначально их появление в периферической крови связывали с преждевременным выходом незрелых лимфоцитов из тимуса [2, 14].

В настоящее время считают, что субпопуляция дубль-позитивных лимфоцитов образована высокодифференцированными клетками памяти. $CD3^+CD4^+CD8^+$ -клетки присутствуют в периферической крови у 1–3% практически здоровых людей, встречаются при аутоиммунных и хронических инфекционных болезнях [15]. Их количество постепенно увеличивается с возрастом, особенно после 65 лет. При хронических вирусных инфекциях они имеют фенотип эффекторных клеток памяти и проявляют антигенную специфичность [16]. Их уровень в крови может повышаться у лиц, инфицированных вирусом иммунодефицита человека, вирусами герпеса человека 6 типа, лимфоцитарного хориоменингита, Т-клеточного лейкоза человека и др. [17].

Если роль Т-хелперов и Т-цитотоксических клеток в иммунопатогенезе ЦМВИ активно изучалась [14], то функциональное значение $CD3^+CD4^+CD8^+$ -клеток не ясно, хотя не исключается их важное участие в адаптивном иммунном ответе на разные инфекционные агенты. Отмечается их гетерогенность. Часть исследователей считает, что источником $CD3^+CD4^+CD8^+$ -лимфоцитов являются $CD4^+$ Т-клетки [12], другие — что $CD8^+$ -лимфоциты [14, 16, 17].

По данным Zhang H. и соавт. [17], у пациентов с хантавирусной геморрагической лихорадкой с почечным синдромом дубль-позитивные Т-клетки по своим характеристикам сходны с цитотоксическими Т-лимфоцитами и обладают антивирусными свойствами.

Giraldo N.A. и соавт. [7] обнаружили в крови пациентов с хронической болезнью Шагаса (вызванной простейшим вида *Trypanosoma cruzi*) увеличение относительного (%) содержания дубль-позитивных лимфоцитов по сравнению со здоровыми лицами, а также наличие в сердечной мышце больных с кардиомиопатией антигенспецифических CD3⁺CD4⁺CD8⁺-клеток.

Показано, что увеличение количества CD3⁺CD4⁺CD8⁺ дубль-позитивных Т-клеток в периферической крови имеет важное патогенетическое значение как фактор риска возникновения тяжелого (вплоть до летального исхода) осложнения лихорадки Денге — плазмореи [16]. По мнению авторов, CD3⁺CD4⁺CD8⁺ дубль-позитивные Т-клетки относятся к эффекторным Т-клеткам, которые по транскриптому ближе к CD3⁺CD8⁺ Т-лимфоцитам, чем к CD3⁺CD4⁺ Т-лимфоцитам [16]. Противоречива и оценка функций дубль-позитивных клеток крови: от цитотоксической до супрессивной [12].

Несмотря на то, что механизмы развития гипопиона при ПУ и плазмореи при лихорадке Денге во многом различаются, оба симптома начинаются с нарушения проницаемости сосудов и характеризуют более тяжелую форму заболевания. При лихорадке Денге с плазмореей отмечено увеличение количества дубль-положительных лимфоцитов в крови по сравнению с легкой формой болезни. При ПУ с гипопионом отмечено прямое влияние нескольких антигенов CMV на уровень CD3⁺CD4⁺CD8⁺ Т-лимфоцитов в отличие от более легких форм ПУ без гипопиона.

Одно из первых исследований роли CD3⁺CD4⁺CD8⁺-лимфоцитов в патогенезе тяжелой патологии сетчатки глаза — возрастной маку-

лярной дегенерации (ВМД) показало повышение абсолютного и относительного количества этих клеток и высокую частоту их выявления в крови пациентов с начальной и промежуточной стадиями ВМД, что позволило авторам предположить их возможную роль в патогенезе ВМД [1]. Следует отметить, что изучение роли дубль-позитивных лимфоцитов в офтальмопатологии только начинается.

Заключение

Несмотря на то, что наши результаты получены на ограниченном материале, они позволили выявить корреляционные связи между показателями гуморального иммунного ответа на индивидуальные антигены CMV и отдельными показателями субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови у пациентов с передними увеитами в зависимости от тяжести течения заболевания. Из 6 исследованных АГ CMV наиболее иммунореактивными оказались предранний антиген (IE), инициирующий начало литического цикла, и иммунодоминантный белок р65, участвующий в разных стадиях репликативного цикла вируса и в осуществлении программы ускользания CMV от иммунного ответа человека. Обнаружена статистически значимая заметная корреляционная связь между дубль-позитивными CD3⁺CD4⁺CD8⁺-клетками и CD19⁺-лимфоцитами и антителообразованием к четырем антигенам CMV у пациентов с гипопионом: прямая связь между дубль-позитивными лимфоцитами и антигенами IE, р65 и р28, обратная — между CD19⁺-лимфоцитами и антигенами IE, р52 и р65. Эти данные указывают на возможное влияние индивидуальных антигенов CMV на субпопуляционный состав лимфоцитов и иммунопатогенез передних увеитов. Полученные результаты показали перспективность выбранного направления исследований.

Список литературы/References

1. Балацкая Н.В., Еремеева Е.А., Слепова О.С., Рябина М.В., Куликова И.Г., Сорожкина Е.С. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови у пациентов с возрастной макулярной дегенерацией // Медицинская иммунология. 2015. Т. 17, № 5. С. 461–466. [Balatskaya N.V., Ereemeeva E.A., Slepova O.S., Ryabina M.V., Kulikova I.G., Sorozhkina E.S. Peripheral blood subpopulation of lymphocytes of patients with age-related macular degeneration. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, vol. 17, no. 5, pp. 461–466. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-5-461-466
2. Лебедев М.Ю., Шолкина М.Н., Живцов О.П. Содержание дубль-позитивных CD4⁺CD8⁺ лимфоцитов в периферической крови тяжелообожженных и больных с остеомиелитом // Фундаментальные исследования. 2013. № 12-1. С. 45–48. [Lebedev M.Y., Sholkina M.N., Zhivshov O.P. Content of double-positive CD4⁺CD8⁺ lymphocytes in peripheral blood of patients with severe burns and patients with osteitis. *Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental Research*, 2013, no. 12, pp. 45–48. (In Russ.)]
3. Нероев В.В., Кричевская Г.И., Алаторцева Г.И., Рябина М.В., Сарыгина А.П., Нестеренко Л.Н., Доценко В.В., Лухверчик Л.Н. Особенности продукции IgG-антител к индивидуальным белкам цитомегаловируса при различных заболеваниях глаз (возрастной макулярной дегенерации и центральной серозной хориоретинопатии) // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 3. С. 530–538. [Neroev V.V., Krichevskaya G.I., Alatorseva G.I., Ryabina M.V., Sarygina A.P., Nesterenko L.N., Dotsenko V.V., Lkhverchik L.N. Features of IgG-antibodies production to individual Cytomegalovirus proteins in various eye diseases (age-related macular degeneration and central serous chorioretinopathy). *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 3, pp. 530–538. (in Russ)] doi: 10.15789/2220-7619-FOI-1424

4. Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Тотолян Арег А., Черешнев В.А. Основные и малые популяции лимфоцитов периферической крови человека и их нормативные значения (методом многоцветного цитометрического анализа) // Медицинская иммунология. 2009, Т. 11, № 2–3. С. 227–238. [Khaidukov S.V., Zuruchka A.V., Totolian Areg A., Chereshevnev V.A. Major and lymphocyte populations of human peripheral blood lymphocytes and their reference values? As assayed by multi-colour cytometry. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2009, vol. 11, no. 2–3, pp. 227–238. (In Russ.)]
5. Blue M.L., Daley J.F., Levine H., Craig K.A., Schlossman S.F. Biosynthesis and surface expression of T8 by peripheral blood T4⁺ cells in vitro. *J. Immunol.*, 1986, vol. 137, no. 4, pp. 1202–1207.
6. Chan N.S., Chee S.P., Caspers L., Bodaghi B. Clinical features of CMV-associated anterior uveitis. *Ocul. Immunol. Inflamm.*, 2018, vol. 26, no. 1, pp. 107–115. doi:10.1080/09273948.2017.1394471
7. Giraldo N.A., Bolaños N.I., Cuellar A., Guzman F., Uribe A.M., Bedoya A., Olaya N., Cucunubá Z.M., Roa N., Rosas F., Velasco V., Puerta C.J., González J.M. Increased CD4⁺/CD8⁺ double-positive T cells in chronic Chagasic patients. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 2011, vol. 5, no. 8: e1294. doi: 10.1371/journal.pntd.0001294
8. Jackson S.E., Mason G.M., Okecha G., Sissons J.G., Wills M.R. Diverse specificities, phenotypes, and antiviral activities of cytomegalovirus-specific CD8⁺ T cells. *J. Virol.*, 2014, vol. 88, no. 18, pp. 10894–10908. doi: 10.1128/JVI.01477-14
9. Kern F., Bunde T., Faulhaber N., Kiecker F., Khatamzas E., Rudawski I.M., Pruss A., Gratama J.W., Volkmer-Engert R., Ewert R., Reinke P., Volk H.D., Picker L.J. Cytomegalovirus (CMV) phosphoprotein 65 makes a large contribution to shaping the T cell repertoire in CMV-exposed individuals. *J. Infect. Dis.*, 2002, vol. 185, no. 12, pp. 1709–1716. doi: 10.1086/340637
10. Kucuksezer U.C., Aktas Cetin E., Esen F., Tahrali I., Akdeniz N., Gelmez M.Y., Deniz G. The role of natural killer cells in autoimmune diseases. *Front. Immunol.*, 2021, vol. 12: 622306. doi:10.3389/fimmu.2021.622306
11. König P., Svrlanska A., Read C., Feichtinger S., Stamminger T. The autophagy-initiating protein kinase ULK1 phosphorylates human cytomegalovirus tegument protein pp28 and regulates efficient virus release. *J. Virol.*, 2021, vol. 95, no. 6: e02346–20. doi: 10.1128/JVI.02346-20
12. Overgaard N.H., Jung J.W., Steptoe R.J., Wells J.W. CD4⁺/CD8⁺ double-positive T cells: more than just a developmental stage? *J. Leukoc. Biol.*, 2015, vol. 97, no. 1, pp. 31–38. doi: 10.1189/jlb.1RU0814-382
13. Siddiqui S., Hackl S., Ghoddusi H., McIntosh M.R., Gomes A.C., Ho J., Reeves M.B., McLean G.R. IgA binds to the AD-2 epitope of glycoprotein B and neutralizes human cytomegalovirus. *Immunology*, 2021, vol. 162, no. 3, pp. 314–327. doi: 10.1111/imm.13286
14. Sylwester A.W., Mitchell B.L., Edgar J.B., Taormina C., Pelte C., Ruchti F., Sleath P.R., Grabstein K.H., Hosken N.A., Kern F., Nelson J.A., Picker L.J. Broadly targeted human cytomegalovirus-specific CD4⁺ and CD8⁺ T cells dominate the memory compartments of exposed subjects. *J. Exp. Med.*, 2005, vol. 202, no. 5, pp. 673–685. doi: 10.1084/jem.20050882
15. Vescovini R., Telera A.R., Pedrazzoni M., Abbate B., Rossetti P., Verzicco I., Arcangeletti M.C., Medici M.C., Calderaro A., Volpi R., Sansoni P., Fagnoni F.F. Impact of persistent cytomegalovirus infection on dynamic changes in human immune system profile. *PLoS One*, 2016, vol. 11, no. 3: e0151965. doi: 10.1371/journal.pone.0151965
16. Yu E.D., Wang H., da Silva Antunes R., Tian Y., Tippalagama R., Alahakoon S.U., Premawansa G., Wijewickrama A., Premawansa S., De Silva A.D., Frazier A., Grifoni A., Sette A., Weiskopf D. A population of CD4⁺CD8⁺ double-positive T cells associated with risk of plasma leakage in dengue viral infection. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 1: 90. doi: 10.3390/v14010090
17. Zhang H., Wang Y., Ma Y., Tang K., Zhang C., Wang M., Zhang X., Xue M., Jia X., Hu H., Li N., Zhuang R., Jin B., Chen L., Zhang Y., Zhang Y. Increased CD4⁺CD8⁺ double positive T cells during hantaan virus infection. *Viruses*, 2022, vol. 14, no. 10: 2243. doi: 10.3390/v14102243

Авторы:

Кричевская Г.И., к.м.н., ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца Минздрава России, Москва, Россия;
Балацкая Н.В., к.б.н., ведущий научный сотрудник, начальник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;
Алаторцева Г.И., к.б.н., зав. лабораторией клонирования вирусных геномов ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;
Сорожкина Е.С., научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия
Ковалева Л.А., к.м.н., научный сотрудник отдела инфекционных и аллергических заболеваний глаз ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;
Куликова И.Г., старший научный сотрудник отдела иммунологии и вирусологии ФГБУ НМИЦ глазных болезней им. Гельмгольца, Москва, Россия;
Доценко В.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клонирования вирусных геномов ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;
Нестеренко Л.Н., к.х.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клонирования вирусных геномов ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия;
Лухверчик Л.Н., к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клонирования вирусных геномов ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова, Москва, Россия.

Authors:

Krichevskaya G.I., PhD (Medicine), Leading Researcher, Department of Immunology and Virology, Helmholtz National Medical Research Center of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;
Balatskaya N.V., PhD (Biology), Leading Researcher, Department of Immunology and Virology, Head of the Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;
Alatortseva G.I., PhD (Biology), Head of the Laboratory for Cloning Viral Genomes, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Sorozhkina E.S., Researcher, Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;
Kovaleva L.A., PhD (Medicine), Researcher, Department of Infectious and Allergic Eye Diseases, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;
Kulikova I.G., Senior Researcher, Department of Immunology and Virology, Moscow Helmholtz Research Centre of Eye Diseases, Moscow, Russian Federation;
Dotsenko V.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory for Cloning Viral Genomes, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Nesterenko L.N., PhD (Chemistry), Leading Researcher, Laboratory for Cloning Viral Genomes, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation;
Lukhverchik L.N., PhD (Biology), Leading Researcher, Laboratory for Cloning Viral Genomes, I.I. Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation.