

На правах рукописи

ИВАНОВ
Михаил Федорович

**ИММУНОПАТОГЕНЕЗ И ИММУНОДИАГНОСТИКА
ГЕМОРРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ
С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ**

3.2.7. Иммунология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Екатеринбург - 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор,
Заслуженный деятель науки РФ

**Балмасова
Ирина Петровна**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, доцент,
зам. директора по инновационному развитию
Федерального бюджетного учреждения науки
«Казанский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии» Федеральной
службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека

**Исаева
Гузель Шавхатовна**

доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры клинической иммунологии и аллергологии
Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского
Федерального государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования «Первый Московский
государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Калюжин
Олег Витальевич**

доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры клинической иммунологии,
аллергологии и адаптологии факультета непрерывного
медицинского образования Медицинского института
Федерального государственного автономного образовательного
учреждения высшего образования «Российский университет
дружбы народов имени Патриса Лумумбы»

**Нестерова
Ирина Вадимовна**

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» (г. Москва).

Защита диссертации состоится «___» _____ 20__ года в _____ часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 24.1.063.01 на базе ФГБУН Института иммунологии и физиологии УрО РАН по адресу: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106.

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке УрО РАН по адресу: 620041, г. Екатеринбург, ул. Софьи Ковалевской/Академическая, 22/20 и на сайте ИИФ УрО РАН (<http://iir.uran.ru>), с авторефератом – там же и на сайте ВАК РФ (<http://vak2.ed.gov.ru>).

Автореферат разослан _____ 20__ г.

Ученый секретарь Совета 24.1.063.01
на базе Института иммунологии и физиологии УрО РАН,
кандидат биологических наук

Ю.А. Журавлёва

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) - острое вирусное природно-очаговое заболевание, характеризующееся системным поражением мелких сосудов, геморрагическим диатезом, гемодинамическими расстройствами и развитием острого повреждения почек по типу интерстициального нефрита (Валишин с соавт., 2016; Бородина с соавт., 2019; Мельников с соавт., 2022; Sehgal et al., 2023).

ГЛПС распространена по всему миру. Она наблюдается в скандинавских странах (Швеция, Норвегия, Финляндия), Болгарии, Югославии, Чехословакии, в Бельгии, Франции, на Дальнем Востоке и в Китае, КНДР, Южной Корее, а в последнее десятилетие – на Ближнем Востоке. В настоящее время ежегодно во всем мире регистрируется около 150000 случаев ГЛПС (Бородина и соавт., 2019; Yashina et al., 2021; Kell, 2022; Ji et al., 2024). В Российской Федерации ГЛПС по уровню заболеваемости занимает первое место среди природно-очаговых болезней (Tkachenko et al., 2019), при этом природные очаги на территории России характеризуются высокой эпидемической активностью и являются одними из самых напряженных в мире (Валишин с соавт., 2014; Yu et al., 2014). Так, в 2022 г. в России отмечен рост заболеваемости ГЛПС в три раза по сравнению с показателями 2021 г., при этом в связи с изменениями природно-климатических условий значительно выросло выявление грызунов, инфицированных вирусным возбудителем этого заболевания, что свидетельствует о высокой вероятности осложнения эпидемиологической обстановки на территориях повышенной эпидемической опасности по ГЛПС (Паевская с соавт., 2024).

Возбудителями ГЛПС являются ортохантавирусы, относящиеся к категории одноцепочечных РНК-содержащих вирусов и принадлежащие к семейству *Hantaviridae*, роду *Orthohantavirus* (Laenen et al., 2019; <https://ictv.global/taxonomy>, 2022). К настоящему времени известны более 38 серологически и генетически отличающихся друг от друга ортохантавирусов (Noack et al., 2020), вызывающих две клинические формы ортохантавирусной инфекции у людей: геморрагическую лихорадку с почечным синдромом (ГЛПС) в Европе и Азии и хантавирусный легочный синдром в Америке (Klingstrom et al., 2019; Sehgal et al., 2023).

На территории России встречается ГЛПС, этиологически связанная с 6 типами

ортохантавирусов: *Puumala, Hantaan, Seoul, Amur, Dobrava, Sochi* (Валишин с соавт., 2016; Морозов с соавт., 2017). На территории Приуралья и Среднего Поволжья, где проводилось данное исследование, встречается только вид *Orthohantavirus puumalaense (Puumala)* (Морозов с соавт., 2017), а основным природным резервуаром является европейская рыжая полевка (Калмыков с соавт., 2012; Алехин с соавт., 2013).

Тяжесть течения заболевания зависит от варианта ортохантавируса, при этом летальность колеблется от 1% до 40% (Kruger et al., 2015]) при этом одной из основных причин летальных исходов при ГЛПС является инфекционно-токсический шок (Валишин с соавт., 2016). Наиболее легкое течение ГЛПС при минимальной летальности (0,1%) этиологически обусловлено вирусом *Puumala* (Sehgal et al., 2023). Тем не менее, даже в последнем случае полное восстановление деятельности почек происходит только у больных легкой формой ГЛПС, а у больных среднетяжелой и тяжелой формами заболевания сохраняются нарушения как со стороны почек, так и гормональной системы, которые восстанавливаются в течение 1-4 лет (Latus et al., 2015).

Клиническая картина ГЛПС, описанная многочисленными авторами из разных регионов мира и ассоциированная с разными ортохантавирусами, демонстрирует сходство основных проявлений болезни. Генерализованный характер инфекции с вовлечением в патологический процесс различных органов и систем обуславливает полиморфизм симптоматики независимо от этиологического агента (вида ортохантавируса) (Морозов с соавт., 2017; Clement et al., 2018; Hentzien et al., 2018). Болезнь характеризуется циклическим течением и многообразием клинических вариантов от abortивных лихорадочных форм до тяжелого течения с геморрагическим синдромом и стойким повреждением почек (Валишин с соавт., 2016; Jiang et al., 2016), что и придает проблеме ГЛПС актуальность (Нехаев с соавт., 2018).

Актуальность проблемы геморрагической лихорадки с почечным синдромом, как и других геморрагических лихорадок, в XXI веке значительно возросла в связи с тем, что вирусные возбудители этих инфекций стали рассматриваться в качестве биологического оружия (Golden et al., 2015).

В патогенезе ГЛПС на первый план выступают иммунологические сдвиги, дисфункция тромбоцитов и генетические особенности клеток-мишеней

макроорганизма (Байгильдина с соавт., 2014; Martinez-Valdebenito et al., 2014). Подчеркивая ведущую роль иммунной системы при ортохантавирусных инфекциях, в частности, ГЛПС, исследователи отмечают как прямые, так и опосредованные эффекты ортохантавирусов при очень широком спектре их клеточных мишеней, в число которых входят, наряду с эндотелиальными, эпителиальными клетками и тромбоцитами, макрофаги, дендритные клетки, лимфоциты, нейтрофилы, имеющие непосредственное отношение к развитию иммунного ответа (Manigold et al., 2014). В связи с этим ГЛПС присуще наличие системного воспаления, сопровождающегося «цитокиновым штормом» (Sehgal et al., 2023).

В настоящее время исследователи значительно продвинулись в изучении отдельных сторон иммунопатогенеза ГЛПС и механизмов участия в иммунном процессе при данном заболевании отдельных клеток и молекулярных компонентов иммунной системы (Ma et al., 2015; Klingstrom et al., 2019). Особый интерес в последние годы проявляется к иммунным механизмам, определяющим тяжесть течения инфекционного процесса, а также методам ранней иммунодиагностики этого заболевания (Jiang et al., 2016).

Несмотря на это, следует признать, что при всем интересе исследователей к иммунопатогенезу ГЛПС накопленные сведения пока носят отрывочный характер и плохо сопоставляются друг с другом, что нарушает целостность представлений о том, что происходит с иммунным ответом при ГЛПС. Это препятствует успешной разработке и внедрению средств специфической терапии и иммунопрофилактики данного заболевания, поскольку в обзорах литературы по проблеме последних лет отмечается, что пока не существует специального лечения или одобренной на международном уровне профилактической вакцины для ГЛПС (Klingstrom et al., 2019; Dheeraseskara et al., 2020).

Учитывая обозначенные аспекты проблемы, можно констатировать, что исследование иммунопатогенеза с разработкой основанных на нем приемов иммунодиагностики ГЛПС до сих пор остается актуальной проблемой.

Степень разработанности темы исследования

Научное направление по изучению иммунопатогенеза ГЛПС, вызванной ортохантавирусом *Puumala*, было основано в 70-х годах XX века на кафедре инфекционных болезней Куйбышевского медицинского института (в настоящее время Самарского государственного медицинского университета) профессором

Рощупкиным В.И. и продолжено его последователями: профессорами Суздальцевым А.А., Морозовым В.Г., Алексеевым О.А., Стальной Л.Н., Стребковой Е.А., Веховой Е.В. и др. За последнее десятилетие в регионе Среднего Поволжья и Приуралья появился целый ряд отечественных научных школ, детально изучающих вопросы эпидемиологии, патогенеза, диагностики и лечения ГЛПС, вызванной ортохантавирусами *Puumala* (Савицкая с соавт., 2023; Sehgal et al., 2023).

В патогенезе ГЛПС довольно значительная роль принадлежит иммунным реакциям, детали которых при данном заболевании до конца не расшифрованы. На начальных этапах развития ГЛПС вирусный возбудитель поступает в организм преимущественно через дыхательные пути, реже через кожу (Морозов с соавт., 2017). В связи с этим в поле зрения исследователей, прежде всего, попадают HLA-DR-позитивные клетки врожденного иммунитета с антигенпрезентирующими свойствами - моноциты/макрофаги и дендритные клетки, число которых в месте локализации патогена резко возрастает. В этом контексте особый интерес представляют данные о возможности пополнения пула дендритных клеток в связи с трансформацией в них моноцитов под влиянием ортохантавируса (Rista et al., 2017). Следует подчеркнуть, что данные о содержании в крови всех указанных клеток при ГЛПС очень противоречивы. Например, по моноцитам есть свидетельства как об увеличении их содержания в крови (Li et al., 2018), так и, наоборот, о резком снижении (Scholz et al., 2017).

Столь же противоречивы данные и о роли натуральных киллеров (NK) как лимфоидных клеток врожденного иммунитета при ГЛПС. В активном участии NK в иммунопатогенезе этого заболевания исследователи практически не сомневаются, однако функции этих клеток тесно связывают со сроками исследования биологического материала, в частности, периферической крови. В начале заболевания число NK в крови падает, что авторы связывают с их миграцией в органы-мишени (Marquardt et al., 2017; Klingström et al., 2019), затем их число возрастает и достигает пика примерно к 10-му дню болезни и держится на этом уровне, по меньшей мере, 2 месяца (Boudreau et al., 2010; Rasmuson et al., 2011). Что касается механизма активации NK, то исследователи придают особое значение лектиновым активирующим рецепторам этих клеток (NKG2D), высокий уровень экспрессии которых на мембране NK связан с индукцией ортохантавирусом одного из их лигандов – стрессиндуцированных молекул MICA и MICB, экспрессируемых

инфицированными эндотелиальными клетками (Zhang et al., 2022).

Довольно много вопросов возникает и при исследовании иммунопатогенетического значения $CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL) при ГЛПС. Еще с начала 2000-х годов известно, что число этих клеток преобладает над содержанием в крови Т-хелперной ($CD4^+$) субпопуляции (Shimizu et al., 2018). В то же время, когда речь идет о механизмах формирования иммунологической памяти при ГЛПС, то, как правило, обсуждается участие в этом процессе $CD4^+$ Т-лимфоцитов, в том числе гранзим-позитивных, и игнорируется роль $CD8^+$ фенотипа (Ma et al., 2015).

В этот же период возник определенный интерес и к содержанию в крови регуляторных Т-клеток (Treg) с фенотипом $CD3^+CD4^+FoxP3^+$ при ГЛПС (Koivula et al., 2014; Ma et al., 2015). Есть экспериментальные и клинические данные об их активном участии в иммунопатогенезе этой инфекции (Jangra et al., 2018; Centers for Disease Control and Prevention Facts about Hantaviruses, 2022). Наряду с этим, в современной литературе встречаются сведения о том, что $CD4^+$ Т-клетки с регуляторным фенотипом присутствуют в периферической крови во время острой хантавирусной инфекции, но число их не увеличивается (Lindgern et al., 2011). В то же время некоторыми авторами обсуждается вопрос о диагностическом значении числа этих клеток при прогнозировании тяжести течения ГЛПС (Koivula et al., 2014), но публикации об иммунопатогенетическом значении $CD3^+CD8^+FoxP3^+$ регуляторных Т-клеток при данном заболевании отсутствуют.

Исследователи проблемы иммунопатогенеза ГЛПС подчеркивают, что до сих пор отсутствуют всесторонние исследования в отношении реакций В-клеток, нетрадиционных Т-клеток, таких как ассоциированные со слизистой оболочкой НКТ-клетки и $\gamma\delta$ Т-клетки, а также лимфоцитов врожденного иммунитета (ILCs), особенно при острой инфекции, вызванной ортохантавирусом *Puumala* (Manigold et al., 2014).

Имеются сведения и о некоторых особенностях цитокинового профиля при ГЛПС с учетом типа возбудителя. Так, для ортохантавирусов вида *Puumala* в литературе указывается на высокий уровень в плазме крови ИЛ-6, ассоциированный с повреждением почек и тромбоцитопенией при ГЛПС (Outinen et al., 2010). Для ГЛПС в целом особое значение в патогенезе придается провоспалительному и проапоптотическому цитокину TNF α (Kyriakidis et al., 2013; Koivula et al., 2014).

Что касается вопросов иммунодиагностики ГЛПС, то детально они

разработаны только в аспекте специфической серодиагностики данного заболевания, а многообразие и неспецифичность клинических проявлений ГЛПС в начале заболевания приводят к тому, что довольно часто больные направляются в стационар с диагнозами «лихорадка неясного генеза», «ОРВИ», «пневмония» (Мельников с соавт., 2022).

Следует подчеркнуть, что серодиагностика, в силу простоты постановки тестов и их экономической доступности, является основным методом верификации диагноза ГЛПС, при этом было показано, что В-клеточные эпитопы, локализующиеся на G1 и G2 белках, не выявляют различий между хантавирусами, принадлежащими разным видам (Krüger et al., 2011). Серологические реакции воспроизводят как в парных сыворотках, так и путем регистрации антител к хантавирусам, принадлежащим отдельным классам/подклассам иммуноглобулинов (Валишин с соавт., 2016; Tukhanova et al., 2020). В последнем случае удается установить и вид возбудителя при использовании в качестве диагностикумов для ИФА рекомбинантных белков нуклеокапсида ортохантавирусов (белок N), принадлежащих разным видам (Jiang et al., 2016). Однако у больных с сопутствующей онкопатологией возможен ложнопозитивный результат (Мухамадеева с соавт., 2016), что объясняется схожестью структуры молекул нуклеокапсида хантавирусов и опухолевого супрессорного фактора PD-1 у человека (Olal et al., 2016). В любом случае результаты серодиагностики становятся достоверными не ранее 7-11 дня заболевания. Более рациональным, хотя и значительно более сложным для воспроизведения, при ГЛПС является выделение ортохантавирусной РНК с применением гнездовой ПЦР с обратной транскрипцией и последующей амплификацией и секвенированием нуклеотидных последовательностей РНК-сегментов ортохантавирусного генома (Валишин с соавт., 2016; Jiang et al., 2016; Clement et al., 2018; Tukhanova et al., 2020).

В соответствии с указанными особенностями специфических диагностических методов возникает проблема ранней диагностики ГЛПС с учетом необходимости раннего прогнозирования тяжести течения заболевания с использованием неспецифических (суррогатных) маркеров (Noack et al., 2022). Например, в качестве раннего признака ГЛПС, появляющегося уже в лихорадочный период, некоторые авторы отмечают рост уровня гомоцистеина, достигающего максимума в олигоурический период и сохраняющего высокие значения на протяжении всего

заболевания (Сыртланова с соавт., 2012).

Помимо отдельных тестов для прогнозирования тяжелого течения, создаются комплексы тестов и шкалы для их оценки: например, SAPS II, SOFA, N-SOFA, что значительно повышает эффективность прогноза (Yu et al., 2017). В последние годы к числу суррогатных маркеров тяжести течения ГЛПС относят такие иммунологические показатели как высокий уровень экспрессии моноцитами CD163 и CD206 (X. Li et al., 2018), обнаружение растворимой формы маркера плазматических клеток (В-лимфоцитов) sCD138 в крови (J. Li et al., 2018).

Несмотря на отдельные достижения, представленный список "белых пятен" в изучении проблемы ГЛПС с иммунологических позиций можно было бы продолжать, в связи с чем и возникли цель и задачи настоящего исследования. При этом особый интерес с позиций разработки эффективных способов таргетной терапии и специфической профилактики ГЛПС представляет вид ортохантавируса *Puumala*, наиболее распространённый на территории Среднего Поволжья.

Цель исследования: расшифровка неизвестных сторон иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом, вызванной ортохантавирусом *Puumala*, с последующей разработкой приемов ранней иммунодиагностики и иммунопрогнозирования тяжести течения данного заболевания.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать особенности пусковых механизмов иммунного ответа с участием оригинального фенотипического набора лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунитета и его цитокинового сопровождения при геморрагической лихорадке с почечным синдромом в сравнении с острыми респираторными вирусными инфекциями.

2. Разработать систему ранних маркеров геморрагической лихорадки с почечным синдромом на основе особенностей клинико-лабораторной и иммунологической оценки этого заболевания в начальный период при дифференциальной диагностике с острыми респираторными вирусными инфекциями.

3. Выявить особенности пусковых механизмов иммунного ответа с участием оригинального фенотипического набора лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунитета и его цитокинового сопровождения, влияющие на тяжесть течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом.

4. Определить прогностические критерии тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом с учетом иммунологических сдвигов в начальный период заболевания на основе анализа рутинных лабораторных показателей, фенотипических характеристик лимфоцитов крови, цитокинового профиля пациентов.

5. Установить особенности иммунного реагирования пациентов на возбудителей геморрагической лихорадки с почечным синдромом в разгар заболевания с участием оригинального фенотипического набора лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунитета и его цитокинового сопровождения.

6. Разработать схему иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом на разных стадиях инфекционного процесса с учетом данных по оценке патогенетической и протективной роли оригинального фенотипического набора лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунитета и его цитокинового сопровождения.

Научная новизна исследования

В процессе выполнения работы впервые был установлен целый ряд не описанных ранее феноменов:

- с начального периода у пациентов с геморрагической лихорадкой с почечным синдромом активационный процесс у цитотоксических Т-лимфоцитов осуществляется NKG2D-зависимым путем, а число лимфоцитов, экспрессирующих NKG2D (CD314), то есть с фенотипом $CD3^+CD8^+CD56^-CD314^+$, статистически значимо возрастает;

- в число характерных признаков геморрагической лихорадки с почечным синдромом входит высокое содержание в крови уровня IL-15, коррелирующее с числом $CD3^+CD8^+CD56^-$ Т-лимфоцитов, экспрессирующих активирующий рецептор NKG2D (CD314);

- при тяжелом течении геморрагической лихорадки с почечным синдромом число регуляторных Т-клеток с фенотипом $CD3^+CD4^+CD25^+FoxP3^+$ по сравнению со среднетяжелым течением статистически значимо падает, в то время как число Treg с фенотипом $CD3^+CD8^+CD25^+FoxP3^+$ достоверно возрастает;

- у пациентов с геморрагической лихорадкой с почечным синдромом особое патогенетическое значение имеют характерный для данного заболевания рост уровней в крови IL-6 и IL-10;

- в олигоурический и полиурический периоды у пациентов с геморрагической лихорадкой с почечным синдромом зарегистрирован довольно значительный рост содержания в крови НКТ ($CD3^+CD56^+$), принадлежащих к субпопуляции $CD8^+$;

- в первую неделю развития геморрагической лихорадки с почечным синдромом (до наступления сероконверсии) для дифференциальной диагностики данного заболевания можно использовать ранний неспецифический интегральный показатель (РНИП), вновь разработанный на основе валидных рутинных лабораторных и иммунологических показателей;

- в начальный период геморрагической лихорадки с почечным синдромом можно прогнозировать тяжелое течение заболевания с помощью прогностического критерия тяжелого течения (ПКТТ), вновь разработанного на основе информативных рутинных лабораторных и иммунологических показателей;

- оценка полученных результатов позволила предложить новую схему иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом, вызванной ортохантавирусом *Puumala*, которая основана на следующих положениях:

- при геморрагической лихорадке с почечным синдромом на фоне высокой антигенной нагрузки, на ранних этапах заболевания, у больных включаются механизмы контрлирующие выраженность системного воспаления и цитотоксических реакций врожденного иммунитета, ключевым звеном которых являются регуляторные Т-клетки с фенотипом $CD3^+CD8^+CD25^+FoxP3^+$;

- иммуносупрессорного контроля регуляторных Т-клеток удается избежать цитотоксическим Т-лимфоцитам с фенотипом $CD3^+CD8^+CD56^-CD314^+$, экспрессирующим активирующий лектиновый рецептор NKG2D, что способствует значительному нарастанию числа этих клеток в крови и раннему формированию пула $CD8^+$ Т-клеток памяти при поддержке IL-15; в случае подверженности этих клеток иммуносупрессорному контролю развивается тяжелое течение геморрагической лихорадки с почечным синдромом;

- в разгар геморрагической лихорадки с почечным синдромом в условиях меняющегося цитокинового профиля и преобладания NKG2D-зависимого

цитотоксического механизма у Т-лимфоцитов происходит активация CD8⁺ НКТ, то есть NKG2D⁺ НКТ с присущей им гиперпродукцией цитокинов и цитолитическими свойствами.

Теоретическая и практическая значимость результатов исследования

Теоретическая значимость диссертационной работы связана с расшифровкой неизвестных ранее иммунопатогенетических механизмов, присущих ГЛПС, их обобщением в виде схем иммунопатогенеза ГЛПС в каждый клинический период и построением рабочих гипотез, объясняющих их развитие и роль при тяжелом течении заболевания на современном уровне знаний. Так, было установлено, что основной особенностью иммунопатогенеза ГЛПС является уникальное сочетание механизмов врожденного и адаптивного иммунного ответа с ключевым участием одной и той же категории лимфоцитов адаптивного иммунного ответа – NKG2D⁺ CTL.

Практическая значимость исследования связана с разработкой новых прогностически и диагностически значимых показателей – прогностического критерия тяжелого течения (ПКТТ), позволяющего прогнозировать тяжелое течение в начальном (лихорадочном) периоде ГЛПС, а также раннего неспецифического интегрального показателя (РНИП), дающего возможность диагностировать ГЛПС на первой неделе заболевания еще до развития диагностически значимой сероконверсии.

Методология и методы исследования

Основной методологический подход к выполнению работы по изучению проблемы ГЛПС заключался в исследовании ее иммунопатогенеза путем выявления взаимосвязи между общепринятыми в клинической практике лабораторными исследованиями при данном заболевании и иммунологическими показателями, учета клинических периодов и тяжести течения ГЛПС, получения доказательств валидности установленных информативных признаков.

Работа включала клинико-лабораторное и иммунологическое наблюдение пациентов с серологически верифицированным диагнозом ГЛПС – 65 человек, а также пациентов с острой респираторной вирусной инфекцией (ОРВИ) – 20 человек, здоровых людей – 15 человек. Кроме этого, были сформированы 2 группы для тестирования вновь разработанных диагностических критериев – раннего неспецифического интегрального показателя (РНИП) ГЛПС (36 пациентов в

начальный период ГЛПС) и прогностического критерия тяжелого течения (ПКТТ) ГЛПС (25 пациентов в начальный период ГЛПС).

Методы исследования включали:

- клиническую оценку пациентов с выделением отдельных периодов ГЛПС и степени тяжести течения заболевания в соответствии с клиническими рекомендациями, утвержденными Министерством здравоохранения РФ;
- проведение рутинных лабораторных исследований (клинический и биохимический анализ крови, клинический анализ и проба Нечипоренко мочи) при ГЛПС в разные периоды и разной степени тяжести заболевания, в том числе путем сравнения их результатов на начальных этапах заболевания с ОРВИ и острым поражением почек токсической природы;
- проточную цитофлуориметрию крови в исследуемых группах с целью получения традиционных и оригинальных фенотипических характеристик лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунного ответа;
- иммуноферментный анализ для изучения цитокинового профиля крови в исследуемых группах.

Полученные данные анализировались методами описательной и сравнительной непараметрической статистики, корреляционного и регрессионного анализа, путем определения 95 % доверительного интервала показателей и построения ROC-кривых их диагностической значимости на основе пакета статистических программ SPSS, версия 23.

Исследование включало сопоставление собственных данных с результатами, полученными другими исследователями, предложение рабочих схем иммунопатогенеза ГЛПС на каждом этапе заболевания и оригинальных трактовок в оценке собственных результатов, обсуждение диагностического значения проведенных исследований.

Личное участие автора в получении результатов

Личный вклад автора в выполнение работы включал планирование исследования, анализ научной литературы по проблеме, сбор клинического материала по диссертационной работе, участие в выполнении лабораторных исследований, обработку и статистический анализ полученных данных. Автором самостоятельно сформулированы основные положения, выводы диссертации и практические рекомендации, оформлены публикации и патенты по теме диссертации,

результаты исследования представлены на конференциях и конгрессах, написан текст диссертационной работы.

Положения, выносимые на защиту

1. На примере дифференциальной диагностики геморрагической лихорадки с почечным синдромом и острых респираторных вирусных инфекций удалось установить, что иммунопатогенез геморрагической лихорадки с почечным синдромом на ранних этапах инфекционного процесса включает неизвестные ранее для данного заболевания механизмы противовирусного иммунитета.

2. Установленные особенности иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом в сочетании с рутинными клинико-лабораторными признаками этого заболевания в первые дни его клинических проявлений служат основой для разработки критериев дифференциальной диагностики геморрагической лихорадки с почечным синдромом и острых респираторных вирусных инфекций.

3. Состояние механизмов контроля активационного процесса у цитотоксических Т-лимфоцитов с участием рецептора NKG2D влияет на развитие тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом и может быть использовано в начальный период заболевания для прогнозирования риска тяжелого течения.

4. При геморрагической лихорадке с почечным синдромом в разгар заболевания (в олигоурический и полиурический периоды) иммунные реакции противовирусной защиты с участием механизмов NKG2D-зависимой активации цитотоксических Т-клеток и их контроля со стороны CD8⁺ регуляторных Т-клеток могут поддерживаться субпопуляцией CD8⁺ NKT, что отражает вновь разработанная схема иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом.

Соответствие диссертации паспорту специальности

Диссертационное исследование соответствует пунктам 2, 3, 6 паспорта специальности 3.2.7. Иммунология (медицинские науки).

Степень достоверности и апробация результатов

Апробация диссертации проведена на совместном заседании кафедр общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии, инфекционных болезней с курсом эпидемиологии, профессиональных болезней с курсом клинической фармакологии им. Заслуженного деятеля науки РФ профессора В.В. Косарева и детских инфекций Федерального государственного бюджетного образовательного

учреждения высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (*далее - ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России*), *протокол № 3 от 27.06.2024 г.*

Проведение работы одобрено Комитетом по биоэтике при ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (*протокол № 200 от 22.05.2016 г.*). Тема диссертации утверждена на заседании Ученого совета ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (*протокол № 6 от 26.12.2019 г.*).

Материалы диссертации доложены и обсуждены на XXIII Всемирном конгрессе по клинической медицине и иммунореабилитации (Нью-Йорк, США, 28 апреля – 1 мая 2017 г.); Международной научной конференции «Медицина, фармацевтика, здоровье – 2017» (Москва, Россия, 10 ноября 2017 г.); XXV Всемирном конгрессе по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Барселона, Испания, 19 – 25 апреля 2018 г.); XII Всемирном конгрессе по ХОБЛ, астме и респираторной аллергии (Дубай, ОАЭ, 2 – 5 февраля 2018 г.); XII Всемирном конгрессе по астме, аллергии и ХОБЛ и II Международном конгрессе по молекулярной аллергологии (Санкт-Петербург, Россия, 29 июня – 2 июля 2019 г.); Объединенном иммунологическом форуме (Новосибирск, Россия, 24–28 июня 2019 г.); - XIII Всемирном конгрессе по астме, аллергии, ХОБЛ и III Международном конгрессе по молекулярной аллергологии (Москва, Россия, 22– 24 октября 2020г.); III Объединенном научном форуме физиологов, биохимиков и молекулярных биологов (Сочи-Дагомыс, Россия, 3-8 октября 2021 г.).

Публикации

По материалам диссертации опубликована 31 печатная работа, из них 13 публикаций - в журналах, рекомендованных ВАК РФ по специальности 3.2.7. Иммунология и/или индексируемых в международных системах цитирования Scopus, Web of Science, RSCI. По материалам диссертации получен патент РФ на изобретение «Способ прогнозирования тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом на ранних этапах заболевания» № 2790962 от 28.02.2023 г. и свидетельство № 2023662769 о регистрации программы для ЭВМ «Калькулятор ранней лабораторной диагностики и прогнозирования тяжелого течения ГЛПС».

Внедрение результатов

Полученные результаты исследования используются в учебном процессе (лекционном курсе, на практических занятиях) со студентами, ординаторами,

слушателями факультета повышения квалификации на кафедрах общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии, инфекционных болезней с эпидемиологией, общей и клинической патологии: патологической анатомии, патологической физиологии ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, а также в лечебной работе клиники инфекционных болезней ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, инфекционных больниц городов Самара и Тольятти.

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 316 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, главы по материалам и методам исследования, трёх глав собственных исследований с обсуждением результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 26 таблицами, 76 рисунками, 4 клиническими примерами. Список использованной литературы содержит 428 источников, из них 62 отечественных и 366 зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

Характеристика клинических групп. В целом в исследовании приняли участие 161 человек, из числа которых были сформированы 3 группы исследования (основная группа, группы сравнения 1 и 2 – всего 100 человек), а также 2 группы апробации вновь разработанных критериев ГЛПС (61 человек).

Клинические исследования выполнялись на базе кафедр инфекционных болезней с эпидемиологией, а также общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии, клиники инфекционных болезней ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России с 2016 по 2019 гг. Отбор участников исследования осуществлялся в соответствии со специально разработанными при выполнении данной работы критериями включения, невключения в исследования, а также исключения из исследований. Выполняемые при этом обследования и манипуляции соответствовали положениям Хельсинской Декларации по вопросам медицинской этики.

В основную группу вошли 65 пациентов с верифицированным диагнозом геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС), которые на протяжении всего заболевания наблюдались в Инфекционном отделении № 1 кафедры

инфекционных болезней с эпидемиологией Клиники Самарского государственного медицинского университета. Из них 24 пациента поступили в стационар на 2-4-й день болезни, то есть находились под наблюдением с начального периода ГЛПС; остальные 41 пациент наблюдались, начиная с олигоурического периода заболевания.

Пациенты группы сравнения 1 в первые 4 дня заболевания находились в том же стационаре и включали 20 человек, поступивших с подозрением на ГЛПС в период сезонного роста встречаемости этого заболевания (осенне-зимний период). У 7 человек впоследствии методом ПЦР была диагностирована аденовирусная инфекция, у 5 человек – грипп В, у 4 больных – риновирусная инфекция, у 4 пациентов – респираторно-синцитиальная вирусная инфекция. Основанием для включения этих больных в группу сравнения послужила вирусная природа заболевания при аэрогенном пути заражения, что и определяло возможности их сопоставления с ГЛПС. Группа сравнения 2 состояла из 15 клинически здоровых доноров крови Самарской областной клинической станции переливания крови.

Кроме того, с целью апробации вновь разработанной нами программы для расчета раннего неспецифического интегрального показателя ГЛПС (РНИП ГЛПС) из 36 пациентов, поступавших в разное время в то же инфекционное отделение с клиническими признаками, регистрируемыми в том числе и при ГЛПС, была сформирована группа, в которой определялся РНИП ГЛПС, а впоследствии был верифицирован диагноз как ГЛПС, так и ОРВИ.

Аналогичным образом проводилась апробация вновь разработанного в ходе исследования способа прогнозирования тяжести течения ГЛПС с использованием созданной нами компьютерной программы для расчета прогностического критерия тяжелого течения ГЛПС (ПКТТ ГЛПС), в которой участвовали 25 пациентов, получавших стационарное лечение по поводу геморрагической лихорадки с почечным синдромом.

Дизайн исследования представлен на *рисунке 1*.



Рисунок 1 - Блок-схема, отражающая дизайн исследований

Методы исследования. Клинико-лабораторные критерии диагностики ГЛПС. В критерии диагностики ГЛПС входили данные анамнеза о контакте с грызунами или инфицированными объектами внешней среды (хворост, солома, сено), а также употребление продуктов, не подвергавшихся термической обработке (капуста, морковь), загрязненных инфицированными грызунами. Верификация диагноза ГЛПС проводилась серологическим методом, начиная с 5-го дня заболевания с использованием реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) с парными сыворотками. Сыворотку получали из венозной крови пациента, забор которой осуществлялся дважды с интервалом в 5-7 дней. В качестве клинико-лабораторных критериев ГЛПС, включая критерии тяжелого течения ГЛПС, использовались параметры, утвержденные в клинических рекомендациях Министерства здравоохранения РФ 2016 года.

Клинический анализ крови проводили на гематологическом анализаторе фирмы “BECMAN-COULTER” (США) в соответствии с инструкцией по применению данного прибора.

Биохимические исследования крови осуществлялись на биохимических анализаторах Hitachi Roche – 902 Automatic analyzer (Япония), Erba XL-600 (Германия), А-25 Bio Systems (Испания) в соответствии с инструкциями по применению приборов.

Анализ суточной мочи по Нечипоренко проводился для выявления наличия в моче цилиндров различных видов, эритроцитов и лейкоцитов, количество которых подсчитывали в 1 мл осадка.

ПЦР для качественного определения РНК-содержащих вирусов (вирусов гриппа А/В, парагриппа 1, 2, 3 и 4 типов, риновирусов, респираторно-синцитиальных вирусов, коронавирусов SARS-CoV-2) и ДНК-содержащих аденовирусов осуществлялась с использованием аппаратуры «StepOne™ Real-Time PCR System» (США) в соответствии с инструкцией по применению прибора и реагентов. Использовался метод обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) «ОТ-ГЕПАТОГЕН-С КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ» (Аналитика, Россия), основанный на процессе обратной транскрипции РНК и последующей амплификации комплементарной ДНК (кДНК), заключающейся в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройкой полинуклеотидных цепей с этих праймеров Taq-полимеразой. Качественное определение ДНК аденовирусов также проводилось на основе тест-систем «Аналитика» (Россия).

Фенотипирование лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии проводилось с использованием цитофлуориметра BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США) после автоматизированной пробоподготовки цельной крови с помощью станции автоматической пробоподготовки BD FACS Sample Prep Assistant II (Becton Dickinson, США) в соответствии с инструкцией по применению приборов и моноклональных антител. С этой целью использовался стандартизированный комплект моноклональных антител (МКАТ) BD Multitest 6- Color TBNK Reagent (BD Biosciences, США), содержащий меченные PerCP-Cy5.5 anti-CD45 МКАТ, меченные FITC anti-CD3 МКАТ, меченные PE-Cy7 anti-CD4 МКАТ, меченные APC-Cy7 anti-

CD8 МКАТ, меченные APC anti-CD19 МКАТ, меченные PE anti-CD16/anti-CD56 МКАТ.

Для анализа функциональной активности лимфоцитов регистрировались уровни экспрессии на их мембране таких маркеров как: 1) активирующие рецепторы CD25 на мембране Т-лимфоцитов и Treg, 2) активирующие лектиновые рецепторы NKG2D (CD314) на мембране CTL и NK, 3) внутриклеточные маркеры FoxP3 в составе CD4⁺ и CD8⁺ регуляторных Т-клеток, 4) мембранный маркер NK (CD56) на мембране CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток. Исследование проводилось в отдельной пробе крови с использованием следующих моноклональных антител: меченные PE-Cy5 anti-CD3 МКАТ (IOTest, Beckman Coulter, США), меченные PE anti-CD25 МКАТ (IOTest, Beckman Coulter, США); меченные PE- Cy5 anti-CD56 МКАТ (IOTest, Beckman Coulter, США), меченные PE anti-NKG2D МКАТ (IOTest, Beckman Coulter, США); меченные FITC anti-FoxP3 МКАТ (BD Biosciences, США) с применением пермеабилизирующих компонентов фирмы Beckman Coulter, США.

Иммуноферментный анализ (ИФА) сыворотки крови для определения цитокинов (интерлейкинов (IL) -4, -1 β , -6, -10, -12, -15, факторов некроза опухолей α и β (TNF α и TNF β), интерферона γ (IFN γ) осуществлялся с использованием комплекта аппаратуры, включающего планшетный фотометр «OPSYS MR» (ридер) фирмы «THERMOLABSYSTEMS» (Финляндия), планшетный вошер ПП2-428 фирмы «ИММЕДТЕХ» (Россия), принтер «EPSON» (Япония) в соответствии с инструкцией по применению аппаратуры и комплектов соответствующих моноклональных антител производства Вектор Бест (Россия).

Статистическая обработка данных проводилась на основе пакета статистических программ SPSS (версия 23) в соответствии с инструкцией по его применению. Применялись методы дескриптивной статистики, сравнение величин в связи с отсутствием нормального распределения данных осуществлялось приемами непараметрической статистики с использованием критерия Манна-Уитни. Выполнялись корреляционный анализ с использованием коэффициента корреляции Спирмена и регрессионный анализ для разработки новых диагностических критериев. Рассчитывался 95% доверительный интервал показателей, определялось соотношение чувствительности и специфичности полученных критериев методом линейной регрессии с построением ROC-кривой и расчетом площади под кривой – AUC. Достоверность различий определяли при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Иммунопатогенетические особенности ГЛПС и дифференциальная диагностика с ОРВИ в начальный период. Объектами исследования в данном разделе работы служили 44 пациента в начальный период заболевания (2-5-й дни болезни), поступавшие 2016 по 2019 годы на стационарное лечение в инфекционное отделение № 1 Клиники Самарского государственного медицинского университета с преобладанием клинических признаков лихорадки и общей интоксикации в сочетании с проживанием в эндемичной зоне по геморрагической лихорадке с почечным синдромом в эпидемиологически опасный период (сентябрь-ноябрь). В этот период часто возникала необходимость дифференциальной диагностики ГЛПС с острыми респираторными вирусными инфекциями, которые также имеют аэрогенный механизм инфицирования и похожие клинические проявления. 18

После 5-го дня болезни у всех пациентов проводилась серологическая диагностика геморрагической лихорадки с почечным синдромом, в результате которой 24 пациентам был установлен диагноз ГЛПС. У остальных 20 пациентов была диагностирована острая респираторная вирусная инфекция, или ОРВИ (в том числе аденовирусная инфекция, грипп В, риновирусная инфекция, респираторно-синцитиальная вирусная инфекция). Допустимый размер каждой выборки пациентов устанавливался с помощью программы G*Power и составлял не менее 20 человек.

Было установлено, что около 60% жалоб, предъявляемых пациентами, и признаков, отмеченных при объективном клиническом исследовании, регистрировались с примерно одинаковой частотой у пациентов в первые дни болезни, которым впоследствии были диагностированы либо ГЛПС, либо ОРВИ. С эпидемиологической точки зрения эти совпадения не случайны, поскольку оба заболевания имеют сезонный характер и преимущественно аэрогенный путь заражения. Более того, несмотря на последующие клинические проявления ГЛПС, связанные с преимущественным поражением почек и геморрагическим синдромом, по мнению большинства исследователей, это заболевание и у животных, и у людей начинается с первичного накопления ортохантавирусов в дыхательной системе (Dheerasekara et al., 2020; Wang et al., 2021).

Даже такое во многом патогномичное для ГЛПС патологическое состояние как геморрагический синдром в число характерных клинических проявлений данного заболевания не вошло, поскольку при ряде острых респираторных вирусных

инфекций, например, при гриппе, геморрагический синдром является одним из типичных клинических признаков (Fukuda et al., 2019; Komori et al., 2020). Несмотря на то, что ряд симптомов являются более характерными для ГЛПС (например, признаки поражения почек), в наших исследованиях среди них не было ни одного, который встречался бы только при одной из анализируемых патологий. В связи с этим клинические признаки вряд ли можно считать надежными диагностическими критериями ГЛПС, они играют лишь вспомогательную роль.

Среди рутинных лабораторных показателей (клинический анализ крови и мочи, биохимический анализ крови, проба мочи по Нечипоренко) установлены определенные количественные диагностически значимые параметры, которые вполне могут служить маркерами ГЛПС уже в первые дни заболевания. К ним относились такие показатели крови как тромбоцитопения, моноцитоз, повышенные уровни мочевины, креатинина и холестерина, активность АЛТ и лактатдегидрогеназы. Эти показатели не были характерны только для ГЛПС, то есть служили суррогатными маркерами. В этой ситуации они нуждались в дополнении более специфичными тестами, которые используются при любом инфекционном процессе, – оценке реакции со стороны иммунной системы.

Оценивая перечень наблюдаемых сдвигов со стороны фенотипического состава лимфоцитов адаптивного и врожденного иммунитета при сравнении групп ГЛПС и ОРВИ, следует подчеркнуть, что в число таких дифференциальных признаков входили как базовые показатели иммунограмм, так и набор некоторых оригинальных фенотипов, что были введены нами для оценки фенотипического профиля лимфоцитов в данном исследовании.

Как показывают данные *рисунка 2*, в число показателей, связанных с фенотипической характеристикой лимфоцитов, по содержанию которых в крови зарегистрированы достоверные различия между ГЛПС и ОРВИ, входят: относительное и абсолютное число В-лимфоцитов – $CD19^+$; относительное и абсолютное число цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL), экспрессирующих активирующий лектиновый рецептор С-типа NKG2D – $CD3^+CD8^+CD56^-CD314^+$; относительное и абсолютное число $CD4^+$ регуляторных Т-клеток – $CD3^+CD4^+CD25^+FoxP3^+$; относительное и абсолютное число $CD8^+$ регуляторных Т-клеток – $CD3^+CD8^+CD25^+FoxP3^+$; относительное число натуральных киллеров (NK) – $CD3^-CD16^+CD56^+$. Наиболее выраженные различия отмечены для фенотипов

$CD3^+CD8^+CD56^-CD314^+$, $CD3^+CD4^+CD25^+FoxP3^+$, $CD3^+CD8^+CD25^+FoxP3^+$. В связи с этим целесообразно сослаться на мотивацию, приведшую к исследованию нами, в частности, фенотипа лимфоцитов $CD3^+CD8^+CD56^-CD314^+$ при ГЛПС. Речь идет о цитотоксических Т-лимфоцитах, экспрессирующих лектиновый активирующий рецептор NKG2D (CD314).

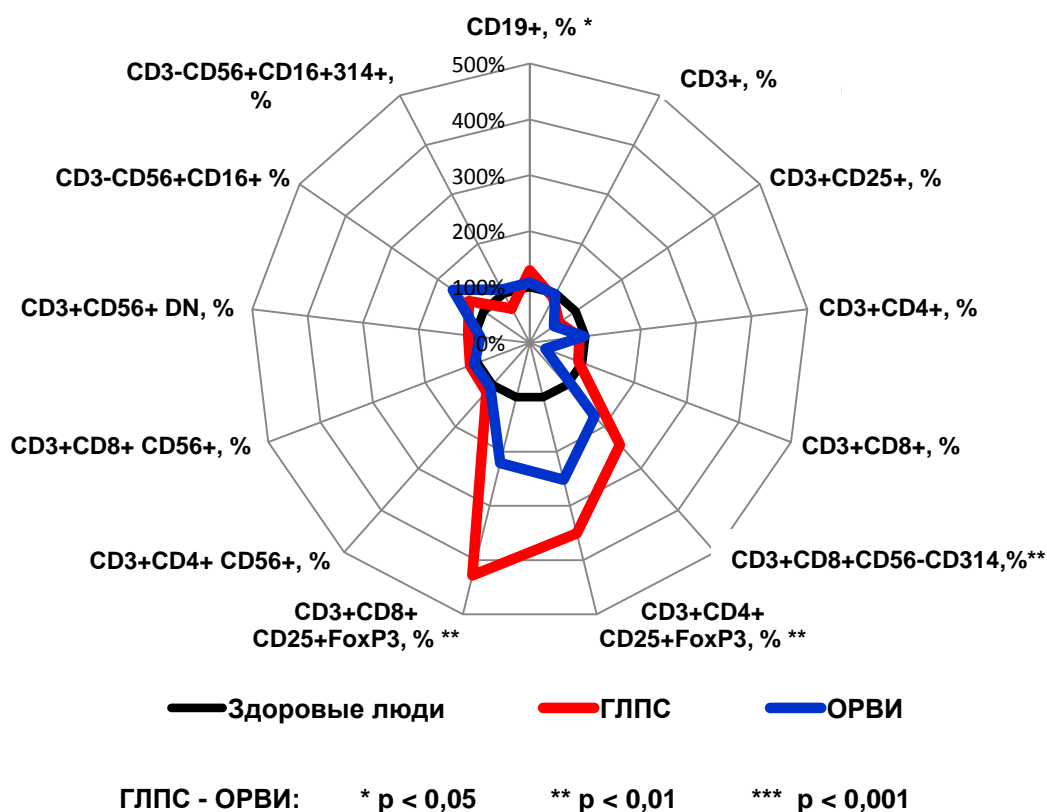


Рисунок 2 - Проценты отклонения числа лимфоцитов разных фенотипов у пациентов с ГЛПС и с ОРВИ в начальные периоды заболевания от показателей у здоровых людей

В работах последних лет встречаются сведения о снижении экспрессии NKG2D натуральными киллерами на фоне роста секреции этими клетками $IFN\gamma$ в первые дни при вакцинации БЦЖ (da Costa et al., 2023), а также при прогрессировании опухолевых процессов (Hassouna et al., 2021), при осложнениях беременности (Zhang et al., 2021), где НК играют выраженную защитную роль.

Что касается экспрессии NKG2D $CD8^+$ Т-лимфоцитами, то анализ этого феномена в современной литературе отмечен на уровне единичных сведений, например, при волчаночном нефрите (Wiechmann et al., 2021), а в одной из публикаций указывается на примере злокачественного опухолевого процесса, что снижение экспрессии этого рецептора у натуральных киллеров сопутствует ее росту

у CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов (Gonzalez et al., 2019).

Все эти относительно немногочисленные сведения не связаны с развитием острых инфекционных процессов, к которым принадлежит ГЛПС, и не касаются патогенеза ортохантавирусных инфекций, хотя явления клеточного стресса при данной патологии довольно выражены (Zhang et al., 2021), что и послужило основанием для исследования нами NKG2D⁺ NK и CTL при ГЛПС.

В начальный период ГЛПС не отмечено отклонений от показателей у здоровых людей ни по общему числу Т-лимфоцитов (CD3⁺), ни по числу Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), ни по числу цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺), при этом число Т-лимфоцитов, экспрессирующих рецептор ранней активации CD25 (CD3⁺CD25⁺), было достоверно снижено.

Не отмечено статистически значимых различий по содержанию Т-лимфоцитов и их основных субпопуляций в крови и при сравнении с данными пациентов с ОРВИ. На этом фоне только при ГЛПС статистически значимо возросло число цитотоксических Т-лимфоцитов, экспрессирующих активирующий рецептор NKG2D (CD3⁺CD8⁺CD314⁺), – в 1,7-2,4 раза по сравнению с пациентами с ОРВИ и со здоровыми людьми. При ОРВИ отмечена некоторая тенденция к росту числа этих клеток, но различия со здоровыми людьми в этом случае не были статистически достоверными.

Еще одна группа клеток, проявившая свою информативность при ГЛПС, – регуляторные Т-клетки (Treg). Их значение в патогенезе данного заболевания отмечается многими авторами, в нашем исследовании была сделана попытка оценить эти клетки с точки зрения несколько необычной фенотипической характеристики. Основным фенотипом Treg, наиболее часто детектируемым в клинических исследованиях, служит CD3⁺CD4⁺CD25^{bright}CD127^{dim-to-neg}FoxP3⁺, хотя данный фенотип не обязательно должен включать FoxP3 (Зурочка с соавт., 2018). Treg необходимы для поддержания иммунного гомеостаза и предотвращения аутоиммунных нарушений. Однако, в отличие от относительно хорошо изученных Treg указанного выше фенотипа, недавние достижения позволили начать раскрытие медико-биологического значения CD8⁺ Treg – очень гетерогенной с фенотипической точки зрения категории регуляторных клеток, активно изучаемой в настоящее время преимущественно на мышинных моделях (Mishra et al., 2021).

Так, были получены данные о том, что в отсутствие активности CD8⁺ Treg

противовирусный иммунитет усиливается, поскольку ограничиваются вредные последствия вирусной инфекции. Это наводит на мысль о возможности в дальнейшем разработать уникальные подходы к лечению вирусной инфекции путем блокирования ингибирующего действия CD8⁺ Treg (Holderried et al., 2013).

Учитывая тот факт, что изучаемым нами вариантом ГЛПС является заболевание, вызванное ортохантавирусом *Puumala*, источником которого служат мыши-полевки, при высокой гетерогенности CD8⁺ Treg и новизне их исследования при ГЛПС, нами использовано определение упрощенного фенотипа этих клеток, широко используемого при проведении подобных исследований, - CD3⁺CD8⁺CD25^{high}FoxP3⁺ (Agle et al., 2018) в сопоставлении с CD3⁺CD4⁺CD25^{high}FoxP3⁺. Анализ относительного числа CD4⁺ регуляторных Т-клеток (CD3⁺CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺), как и других иммунологических параметров, показал их высокую диагностическую значимость в начале клинических проявлений ГЛПС. Что касается CD8⁺ регуляторных Т-клеток, то их относительное число в начальный период ГЛПС возрастало еще более значительно. По сравнению с данными пациентов с ОРВИ оно было выше в 1,8 раза, а по сравнению со здоровыми людьми – в 28,9 раза. Соответственно, диагностическое значение определения процентного содержания CD8⁺ Treg оказалось очень высоким и было выше, чем для CD4⁺ Treg.

На *рисунке 3* показаны изменения цитокинового профиля в начальный период ГЛПС в сравнении с таковым при ОРВИ и у здоровых людей. Среди тестированных цитокинов не оказалось ни одного, который не подвергался бы при ГЛПС статистически значимому отклонению от контроля. Примерно такая же ситуация наблюдалась и при острой респираторной вирусной инфекции. При обоих заболеваниях отмечен значительный рост содержания в крови цитокинов, сопряженных с клеточными иммунными реакциями: IFN γ , IL-12, IL-15, TNF α , TNF β , а также провоспалительного IL-6. Кроме того, возрастал уровень IL-10 – цитокина с регуляторными и противовоспалительными свойствами, что создает весьма благоприятный фон для дифференцировки регуляторных Т-клеток.

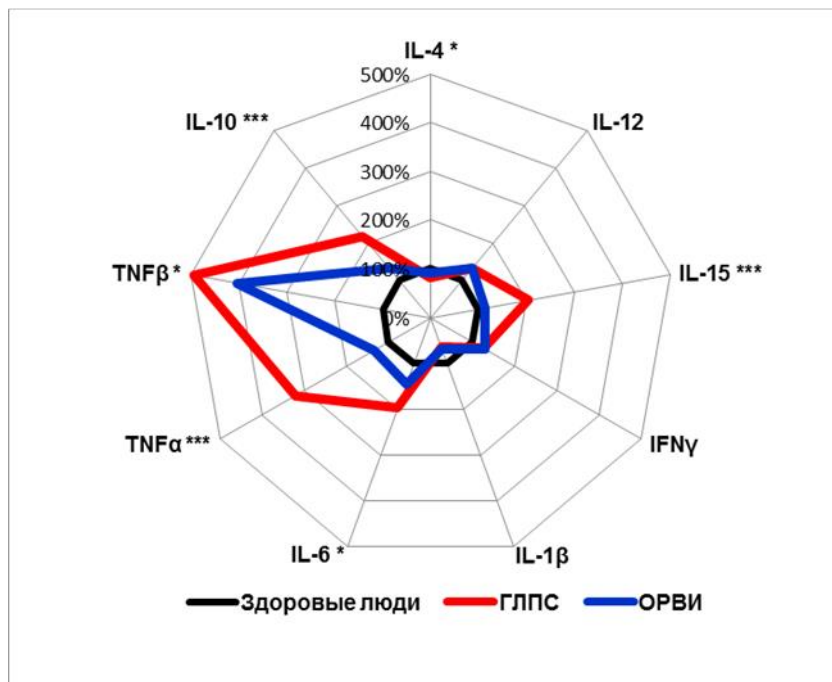


Рисунок 3 - Проценты отклонения цитокинового профиля у пациентов с ГЛПС и с ОРВИ в начальные периоды заболевания от показателей у здоровых людей

При оценке цитокинового профиля у пациентов с ГЛПС особенно интересный результат был получен при анализе корреляционных связей отдельных цитокинов и лимфоцитов различных фенотипов, а также моноцитов с использованием коэффициента корреляции Спирмена (рисунок 4). Наибольшее число корреляционных связей было зарегистрировано для цитокинов, участвующих в реализации клеточно-опосредованного иммунного ответа – $IFN\gamma$, IL-12, IL-15, а также выраженных регуляторных и противовоспалительных эффектов, в частности, IL-10. Особого внимания заслуживают корреляции с участием IL-15, поскольку этот цитокин характеризовали выраженные взаимосвязи с моноцитами и лимфоцитами врожденного иммунитета, а среди лимфоцитов адаптивного иммунного ответа – с цитотоксическими Т-лимфоцитами, экспрессирующими рецептор NKG2D.

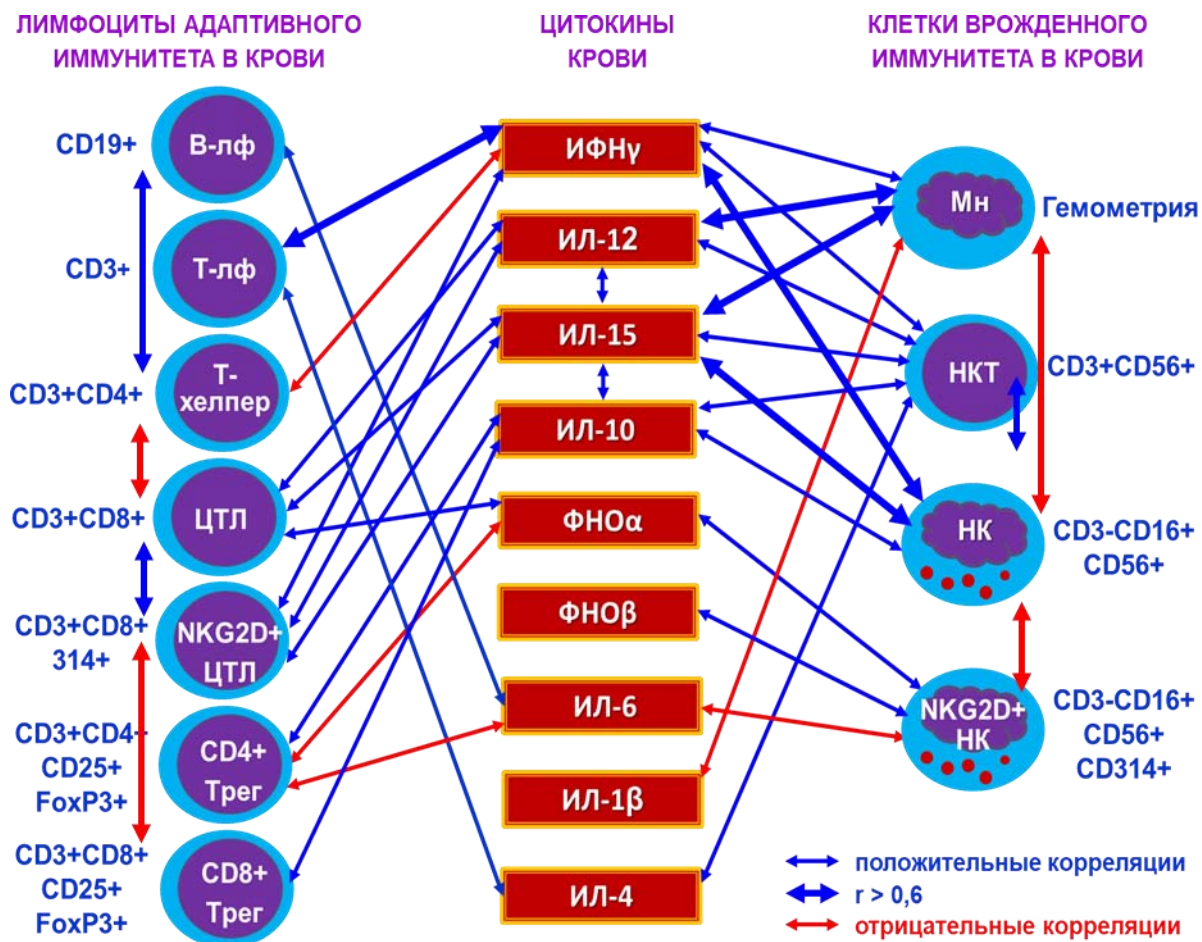


Рисунок 4 - Корреляционные взаимосвязи цитокинов крови и моноцитов, фенотипов лимфоцитов врожденного и адаптивного иммунитета

Таким образом, уже в начальный период ГЛПС был установлен целый ряд характерных лабораторных признаков этого заболевания, которые можно использовать для того, чтобы дифференцировать ГЛПС, например, от схожих по клинике в этот период ОРВИ. Среди установленных дифференциальных признаков довольно значительную долю составляют суррогатные маркеры, отмечены и иммунологические сдвиги, патогенетическую роль которых еще предстоит оценить.

Была сделана попытка с помощью интегрального подхода с использованием регрессионного анализа, получившего довольно широкое признание в современной научной литературе (Любушкина с соавт., 2019; Wang et al., 2022), разработать единый критерий, позволяющий провести раннюю дифференциальную диагностику ГЛПС до верификации этого заболевания специфическими методами (серодиагностика).

Регрессионному анализу были подвергнуты все 19 информативных лабораторных показателей, установленные в начальный период заболевания. В результате было получено уравнение линейной регрессии следующего вида:

$$\text{РНИП ГЛПС} = 1,65 - 0,785*[\text{АСТ}] + 0,531*[\text{АЛТ}] + 0,395*[\text{тромбоциты}] - 0,209*[\text{моноциты}] + 0,156*[\text{CD4}^+ \text{Treg}] + 0,145*[\text{NK}] - 0,142*[\text{В}] - 0,13*[\text{IL-15}] + 0,128*[\text{креатинин}] + 0,127*[\text{NKG2D}^+ \text{CTL}] + 0,114*[\text{ГГТП}],$$

где РНИП - ранний неспецифический интегральный показатель ГЛПС, * - знак умножения, АСТ - активность аспаратаминотрансферазы в крови в ЕД/л, АЛТ - активность аланинаминотрансферазы в крови в ЕД/л, тромбоциты - число тромбоцитов в 1л крови/ 10^9 , моноциты - процент моноцитов среди лейкоцитов крови, $\text{CD4}^+ \text{Treg}$ - процент $\text{CD3}^+\text{CD4}^+\text{CD25}^+\text{FoxP3}^+$ клеток среди лимфоцитов крови, NK - процент натуральных киллеров среди лимфоцитов крови, В - процент В-лимфоцитов среди лимфоцитов крови, IL-15 - уровень IL-15 в крови в пг/мл, креатинин - уровень креатинина в крови в ммоль/л, $\text{NKG2D}^+ \text{CTL}$ - процент $\text{CD3}^+\text{CD8}^+\text{CD56}^-\text{CD314}^+$ клеток среди лимфоцитов крови, ГГТП - активность γ -глутамилтранспептидазы в крови в ЕД/л.

Как следует из полученной формулы, среди 19 использованных параметров статистической программой было отобрано 11 показателей, которые вошли в состав уравнения регрессии для расчета раннего неспецифического интегрального показателя (РНИП) ГЛПС. На основе полученного уравнения регрессии в настоящее время нами разработана программа для ЭВМ (Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭМВ № 2023662769 от 14.06.2023 г.), которую используют для определения РНИП ГЛПС у конкретного пациента. С этой целью в программу вводят числовые значения каждого из 11 информативных показателей у конкретного больного в первые 5 дней от начала появления симптомов, и программа выдает числовое значение РНИП ГЛПС для данного больного и его оценку (% вероятности ГЛПС).

Чтобы получить критериальные значения РНИП ГЛПС, при которых ранний диагноз заболевания является наиболее вероятным, проводилось сравнение 95%-ных доверительных интервалов этого коэффициента при ГЛПС и других заболеваниях из групп сравнения. Диагностическая значимость РНИП устанавливалась путем построения ROC-кривой (рисунок 5).

Статистический анализ показал, что при значениях ниже 91,5 РНИП в первые дни заболевания с высокой диагностической значимостью ($\text{AUC} = 0,939$) свидетельствует в пользу ГЛПС.

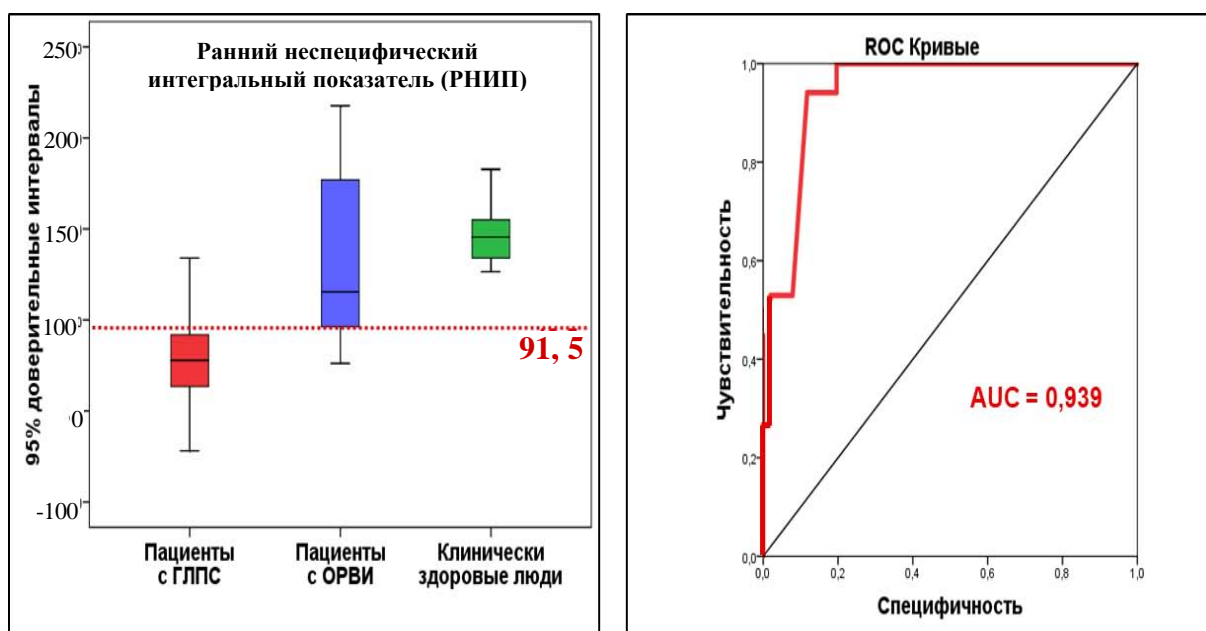


Рисунок 5 - 95% доверительные интервалы и ROC-кривые значений РНИП ГЛПС в группах сравнения

В 2022 году нами было проведено тестирование разработанной программы у 36 пациентов, поступавших в разное время в инфекционное отделение №1 Клиники ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России на вторые-пятые сутки от начала заболевания на фоне выраженной лихорадки, слабости, головной боли, болях в мышцах и пояснице с предварительным диагнозом: «Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом».

Всем больным были выполнены лабораторные исследования с определением в крови числа тромбоцитов, процента моноцитов среди лейкоцитов, активности АЛТ, АСТ, ГТП, уровня креатинина, а также процентного содержания среди лимфоцитов НК, В-лимфоцитов, CD314⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов, CD4⁺ регуляторных Т-клеток, уровня IL-15.

Среди 36 пациентов у 25 человек значения РНИП ГЛПС колебались в пределах от 48,7 до 65,2, а впоследствии серологически был подтвержден диагноз ГЛПС. У 12 человек РНИП ГЛПС показывал значения в диапазоне от 95,4 до 167,2, а по данным метода ПЦР в слизи из носоглотки были обнаружены возбудители аденовирусной инфекции (4 чел.), гриппа (5 чел.), смешанной гриппозной и респираторно-синтициальной вирусной инфекции (3 чел.).

Приступая к интерпретации биологического значения установленных особенностей иммунного реагирования при ГЛПС, стоит подчеркнуть, что в

начальный период этого заболевания осуществление клеточных реакций не только врожденного иммунитета, но и развитие триггерных механизмов клеточной фазы адаптивного иммунного ответа реализуются по довольно необычному сценарию, близкому к реакциям врожденного иммунитета.

В научной литературе широко дискутируется вопрос о ведущей роли CTL в патогенезе ГЛПС (Li et al., 2006). В нашей работе впервые отмечена такая особенность ГЛПС как начало активационного процесса в Т-системе лимфоцитов не с активации Т-хелперов IL-2-зависимым механизмом (через CD25), а с активации CTL NKG2D-зависимым путем, поскольку в лихорадочный период этого заболевания число Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD25 ($CD3^+CD25^+$), не изменялось или даже падало, в то время как число лимфоцитов с фенотипом $CD3^+CD8^+CD56^-CD314^+$ увеличивалось в 1,6 раза по сравнению с контролем.

Обычно такой механизм характеризуется с точки зрения вовлечения в противовирусный иммунный ответ $NKG2D^+$ натуральных киллеров ($CD16^+CD56^+CD314^+$), но в наших исследованиях изменений в количественном составе этих клеток в начальный период зафиксировано не было, в отличие от $CD3^+CD8^+CD56^-CD314^+$ CTL.

NKG2D (CD314) является одним из относительно давно известных и наиболее хорошо охарактеризованных лектиноподобных рецепторов С-типа. Экспрессия белков NKG2D на клеточной поверхности требует их ассоциации с адаптерными белками для стабилизации рецепторного комплекса. Функции адаптерных белков во всех случаях выполняют DAP10, а у CTL в рецепторный комплекс входит еще и специфический рецептор этих клеток (TCR). Лиганды NKG2D не обнаружены на поверхности здоровых клеток, их индукцию часто приписывают клеточному «стрессу», например, вследствие инфицирования клеток вирусами (Liu et al., 2001). Хотя NKG2D экспрессируется на всех наивных $CD8^+$ Т-клетках человека, он не может костимулировать TCR-индуцированную активацию покоящихся CTL, а делает это только после того, как Т-клетки уже были активированы с участием TCR (Yu et al., 2014).

После преобразования костимулирующего сигнала с участием TCR и NKG2D CTL приобретают способность к цитолизу (Walsh et al., 2008) NKG2D-зависимым и TCR-независимым способом (Liu et al., 2001), то есть доля специфических реакций по элиминации антигена с участием CTL значительно снижается. Иными словами,

специфическая элиминация инфицированных клеток переходит в низко специфичную, что значительно снижает эффективность освобождения организма человека от вирусного возбудителя.

В эксперименте на мышах было показано, что IL-15 является ключевым компонентом выживания T-клеток со свойствами NKG2D⁺ CD8⁺ предшественников памяти (Mathieu et al., 2015; Perez et al., 2019). Имеются указания на довольно значительное повышение уровня IL-15 при ГЛПС, хотя авторы связывают это с функциональным значением совершенно других клеток – натуральных киллеров (Avsic-Zupanc et al., 2019). Именно этот цитокин определяет трансформацию моноцитов/макрофагов в дендритные клетки. Способствует IL-15 и экспрессии NKG2D (Малашенкова с соавт., 2014; Verbist et al., 2012). Отмечается также, что параллельно с НК-клетками передача сигналов IL-15 влияет на все фазы биологии CD8⁺ T-клеток, включая их развитие, пролиферацию, выживание, цитотоксичность и формирование пула CD8⁺ T-лимфоцитов памяти (Юрова с соавт., 2018; Andre et al., 2012).

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что характерным признаком начального периода ГЛПС является не только рост экспрессии рецептора NKG2D у CD8⁺ T-лимфоцитов, но и коррелирующее с числом этих клеток, как и с числом НК, нарастание в крови уровня IL-15 (Sugita et al., 2010).

Недавно в литературе появились сведения о способности IL-15 влиять еще на одну категорию клеток иммунной системы – регуляторные T-клетки. Так, было выявлено снижение пролиферации Treg под воздействием IL-15, которое приводит к задержке восстановления пула этих клеток (Shevyrev et al., 2021).

Более детальные исследования позволили установить, что у здоровых людей присутствуют в крови CD8αα регуляторные T-клетки, особенности которых включают зависимость от передачи сигналов с участием IL-15 и способность к формированию фенотипа памяти (Tang et al., 2019).

В соответствии с этими данными возникла еще одна гипотеза, которая помогла бы объяснить взаимосвязь между значительным нарастанием в крови в начальный период ГЛПС не только NKG2D⁺ CTL, но и Treg. При этом основная функция CTL – элиминация вируса через цитотоксическое повреждение клеток, в которых этот вирус реплицируется, что нередко еще и усугубляет повреждение тканей, а Treg призваны ограничивать воспалительный и иммунный ответ организма, чтобы уменьшить его

повреждающее действие на ткани (Keunan et al., 2008; Yu et al., 2014).

Патогенетическое значение нарастания числа Treg при ГЛПС, как и при других вирусных инфекциях, на ранних этапах заболевания уже отмечалась другими исследователями (Goeijenbier et al., 2013; Koivula et al., 2014; Flippe et al., 2019), но с учетом дифференцирования функций $CD4^+$ и $CD8^+$ фенотипов Treg проблема приобретает новый иммунопатогенетический аспект.

По результатам анализа данных, полученных для начального периода ГЛПС и включающих несколько неисследованных ранее феноменов, появилась рабочая гипотеза, что все эти феномены составляют единый механизм, влияющий на дальнейшее развитие инфекционного процесса.

Имунопатогенетические особенности ГЛПС и прогнозирование тяжелого течения заболевания в начальный период. Несмотря на относительно благоприятное течение ГЛПС, вызванной ортохантавирусом *Puumala*, в случаях тяжелого течения этого заболевания могут возникать довольно тяжелые осложнения, приводящие к длительному нарушению здоровья после перенесенной инфекции и даже к летальному исходу. Особенно тяжелые нарушения при ГЛПС, этиологически связанным с вирусом *Puumala*, возникают со стороны почек, заставляющие прибегать в ряде случаев к процедуре гемодиализа. В связи этим очень важно было бы как можно раньше прогнозировать тяжелое течение ГЛПС, чтобы учесть это в тактике ведения пациента.

В начальный период ГЛПС под наблюдением находились 24 пациента, которым после 5-го дня болезни была проведена серологическая диагностика и установлен диагноз, при этом у четырех пациентов с первых дней заболевание приняло тяжелое течение. По мере развития инфекционного процесса ГЛПС приобрело тяжелое течение не только у этих 4-х пациентов, а у 9 человек из тех 24, что поступали на стационарное течение в начальный период ГЛПС.

В процессе анализа клинико-лабораторных признаков ГЛПС, носящих рутинный характер, на 2-5-й дни болезни удалось установить несколько суррогатных маркеров тяжелого течения ГЛПС, прогностическую значимость которых удалось доказать в ходе сравнения с показателями при среднетяжелом течении заболевания. Речь идет о 3-х признаках: снижение процента моноцитов среди лейкоцитов крови, рост уровня мочевины и активности аланинаминотрансферазы в крови.

При ГЛПС тяжелого течения в начальный период статистически достоверные отклонения иммунологических показателей от аналогичных параметров при среднетяжелом течении (рисунок 6) включали Т-хелперы ($CD3^+CD4^+$), цитотоксические Т-лимфоциты ($CD3^+CD8^+$), в том числе CTL, экспрессирующие рецептор NKG2D ($CD3^+CD8^+CD56^-CD314^+$), $CD8^+$ регуляторные Т-клетки ($CD3^+CD8^+CD25^+FoxP3^+$).

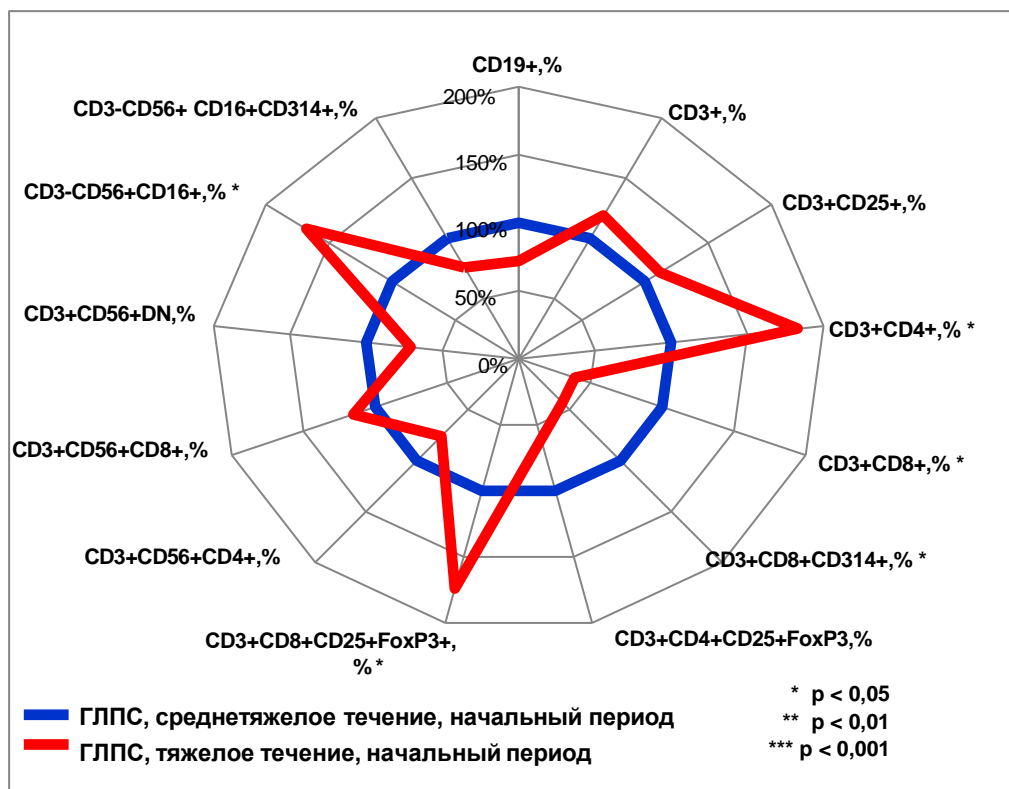


Рисунок 6 - Проценты отклонения содержания в крови лимфоцитов различных фенотипов у пациентов с ГЛПС тяжелого течения от показателей среднетяжелого течения в начальный период

Так, при тяжелом течении ГЛПС менялось соотношение Т-хелперов и CTL. Если при среднетяжелом течении заболевания процентное содержание этих клеток примерно соответствовало друг другу, то при тяжелом течении процент медианы Т-хелперов в 4,7 раза превышал медиану CTL, то есть развитию тяжелого течения предшествовало снижение доли клеточно-опосредованных реакций иммунного ответа, играющих весьма значительную роль в элиминации возбудителя семейства ортохантвирусов, мало представленных в кровотоке в свободном (внутриклеточном) состоянии.

Кроме того, в случае среднетяжелого течения заболевания среди CTL на долю клеток, экспрессирующих NKG2D, приходилось около 80%, в то время как при тяжелом течении при снижении числа NKG2D⁺ CTL их доля поднималась до 94%, что

дает основание считать, что падение числа СТЛ при тяжелом течении ГЛПС происходило именно за счет клеток, экспрессирующих названный активирующий рецептор.

В зависимости от тяжести течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом менялось и соотношение $CD4^+$ и $CD8^+$ регуляторных Т-клеток. При тяжелом течении заболевания число $CD4^+$ Treg по сравнению со среднетяжелым снижалось в 1,6 раза, в то время как число $CD8^+$ Treg возрастало в 2,7 раз.

Учитывая связь функциональных свойств лимфоцитов различных фенотипов с их способностью продуцировать и воспринимать в качестве сигнала различные цитокины, далее проводился анализ цитокинового профиля крови при ГЛПС разной степени тяжести в начальный период заболевания (*рисунок 7*).

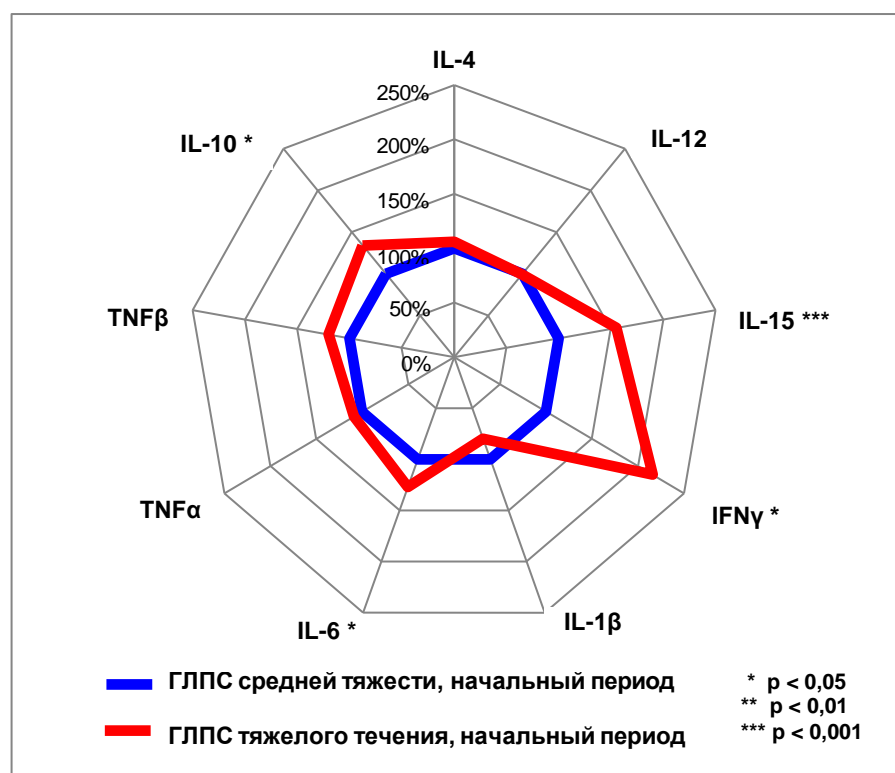


Рисунок 7 - Проценты отклонения содержания в крови цитокинов у пациентов с ГЛПС тяжелого течения от показателей среднетяжелого течения в начальный период

При тяжелом течении ГЛПС в крови отмечены более высокие уровни IL-15, IFN γ , IL-6 и IL-10. При этом цитокины клеточно-опосредованного иммунного ответа, такие как IL-15 и IFN γ , при тяжелом течении ГЛПС показывали наибольшую степень отклонения от среднетяжелого течения.

Все информативные показатели, способные по их диагностической значимости претендовать на роль количественных критериев риска тяжелого течения

ГЛПС, были использованы в качестве независимых переменных для проведения регрессионного анализа, при осуществлении которого зависимой переменной выступала тяжесть заболевания, а принципом отбора показателей – начальный период ГЛПС. В результате такого анализа было получено уравнение логистической регрессии следующего вида:

$$\text{ПКТТ ГЛПС} = 2,015 + 0,516 * [\text{мочевина}] - 0,381 * [\text{CD8}^+ \text{Treg}] + 0,364 * [\text{NKG2D}^+ \text{CTL}] + 0,072 * [\text{АЛТ}],$$

где ПКТТ - прогностический критерий тяжелого течения ГЛПС, * - знак умножения, мочевины - уровень мочевины в крови в ммоль/л, CD8⁺ Treg - относительное число CD3⁺CD8⁺CD25⁺FoxP3⁺ лимфоцитов в крови, NKG2D⁺ CTL - относительное число CD3⁺CD8⁺CD56⁺CD314⁺ лимфоцитов в крови, АЛТ - активность аланинаминотрансферазы в крови в ЕД/л.

Как следует из полученной формулы, среди 10 использованных информативных параметров статистической программой было отобрано только 4 показателя, которые и вошли в состав уравнения регрессии для расчета прогностического критерия тяжести течения (ПКТТ) ГЛПС. Подставляя в уравнение числовые значения каждого показателя у конкретного больного в лихорадочный период заболевания (первые 2-5 суток от начала появления симптомов), получается числовое значение ПКТТ для данного больного.

Чтобы получить критериальные значения ПКТТ ГЛПС, при которых тяжелое течение заболевания становится наиболее вероятным, проводилось сравнение 95%-ных доверительных интервалов этого коэффициента при среднетяжелом и тяжелом течении. Прогностическая значимость такого сравнения устанавливалась путем построения ROC-кривой, отражающей соотношение в форме линейной регрессии чувствительности и специфичности теста (*рисунок 8*). Как следует из графика, разграничительная величина для 95% доверительных интервалов ПКТТ у больных со среднетяжелым и тяжелым течением ГЛПС составляет 19 единиц. Иными словами, при ПКТТ ГЛПС выше/равно 19 у больного можно констатировать риск тяжелого течения заболевания. Прогностическая значимость ПКТТ ГЛПС очень велика, поскольку при построении ROC-кривой AUC составляет 1,0, то есть соответствует максимальному значению площади под ROC-кривой.

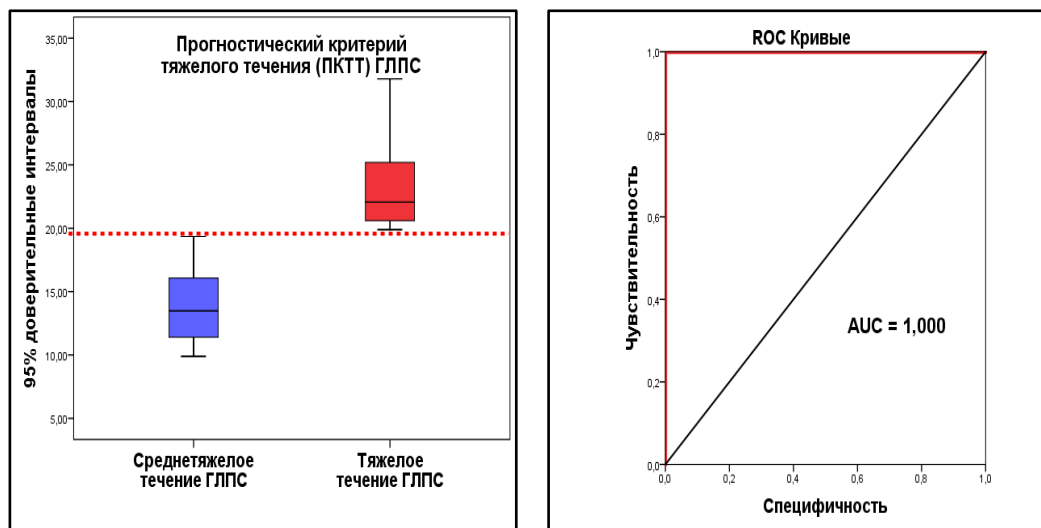


Рисунок 8 - 95% доверительные интервалы прогностического критерия тяжелого течения (ПКТТ) ГЛПС и ROC-кривая его прогностической значимости у пациентов с ГЛПС в лихорадочный период

Для более удобного применения на практике, полученное уравнение логической регрессии для определения прогностического критерия тяжести течения ГЛПС, было реализовано в виде компьютерной программы «Калькулятор ранней лабораторной диагностики и прогнозирования тяжелого течения ГЛПС» (свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023662769).

Апробация способа прогнозирования тяжести течения ГЛПС с использованием соответствующей компьютерной программы проводилась в 2022 году на первой неделе заболевания у 25 больных, проходивших стационарное лечение в инфекционном отделении №1 Клиники ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России по поводу геморрагической лихорадки с почечным синдромом. В спектр лабораторных исследований крови этих больных входило обязательное определение в крови активности АЛТ, процента моноцитов среди лейкоцитов, CD314⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов, CD8⁺ регуляторных Т-клеток. Это позволило сделать расчет прогностического критерия тяжелого течения ГЛПС. У 21 пациента из 25 величина ПКТТ ГЛПС оказалась ниже 19 (в диапазоне от 9,7 до 17,6), и заболевание впоследствии имело среднетяжелое течение. У 4-х пациентов величина прогностического критерия в первые 5 дней заболевания составляла от 19,9 до 35,5 – у всех клинически было подтверждено, что ГЛПС принимала тяжелое течение.

Иммунопатогенетические особенности ГЛПС в олигоурический и полиурический периоды. При анализе фенотипических характеристик лимфоцитов крови в разгар заболевания, то есть в олигоурический и полиурический периоды, многие показатели их относительного содержания в крови статистически значимо

отличались от показателей здоровых людей. Более того, многие из этих фенотипов позволяли даже дифференцировать среднетяжелое и тяжелое течение ГЛПС.

Олигоурический период остается самым тяжелым в течении ГЛПС. Кардинальным признаком его наступления является появление сильных болей в пояснице или/и в животе у большинства пациентов. Одновременно снижается диурез, вплоть до анурии, развивается острое повреждение почек (ОПП). Более высокие значения при тяжелом течении ГЛПС с высокой (AUC 0,8-0,9) или очень высокой (AUC > 0,9) диагностической значимостью принимали такие показатели, как СТЛ, в том числе экспрессирующие NKG2D, а также CD8⁺ НКТ (рисунок 9).

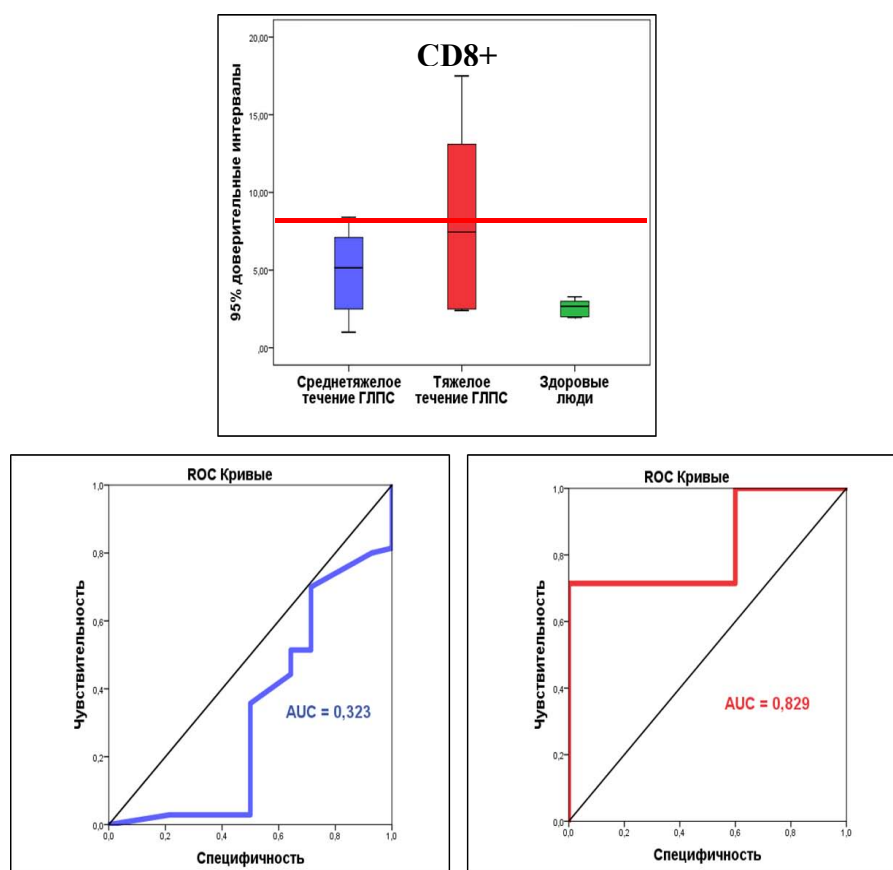


Рисунок 9 - 95% доверительные интервалы процента CD8⁺ НКТ среди лимфоцитов в крови пациентов с ГЛПС различной степени тяжести и ROC-кривые их диагностической значимости в полиурический период

Следует подчеркнуть, что если при среднетяжелом течении заболевания процентное содержание CD8⁺ НКТ в крови диагностического значения не имело (AUC = 0,323), то при тяжелом течении ГЛПС данный показатель при значениях выше 8% обладал высокой диагностической значимостью (AUC = 0,829) как маркер этого варианта течения. Наиболее низкие значения при тяжелом течении ГЛПС (при

среднетяжелом течении более высокие значения) приобретали В-лимфоциты; CD8⁺ регуляторные Т-клетки; натуральные киллеры, экспрессирующие NKG2D. К цитокинам, показывающим наибольшую степень таких отклонений, принадлежат IL-15, IL-6, TNF β , IL-10. Особого внимания заслуживает нарастание в 11-12 раз у пациентов с ГЛПС содержания в крови TNF β . Этот цитокин вырабатывается Т-лимфоцитами и обычно оказывает локальный эффект, который проявляется пролиферацией клеток и их апоптозом.

В конечном итоге был сделан вывод о наибольшем информативном значении в олигоурический период ГЛПС: (1) при среднетяжелом течении - рост доли В-лимфоцитов, CD8⁺ Treg, уровня IL-15; (2) при тяжелом течении - рост доли CTL, NKG2D⁺ CTL, CD8⁺ НКТ, падение доли NKG2D⁺ НК, рост уровней IL-15 и IL-6.

В полиурический период состояние больных улучшается, уменьшается интенсивность болей, увеличивается диурез. Развивается полиурия, характерна никтурия. Общий анализ крови нормализуется, снижаются показатели мочевины и креатинина. Наиболее характерным иммунологическим признаком служит продолжающееся нарастание числа CD8⁺ НКТ клеток крови, хотя степень нарастания снижается по сравнению с олигоурическим периодом.

Среди цитокинов в этот же период различия между среднетяжелым и тяжелым течением ГЛПС выявлял IL-15, уровень которого был статистически значимо выше при тяжелом течении. Есть основание считать, что именно при поддержке IL-15 в разгар ГЛПС развивается отмеченный выше рост содержания в крови CD8⁺ НКТ.

Дело в том, что такая уникальная категория Т-лимфоцитов как НКТ в настоящее время оценивается как иммунный компонент, осуществляющий важную связь между врожденными и адаптивными иммунными реакциями (Juno et al., 2012). В периферической крови человека в норме содержится до 3% НКТ от общего количества лимфоцитов (Verzins et al., 2011). НКТ могут активироваться как антигензависимыми, так и независимыми способами, осуществляя свои функции через секрецию огромного количества Th1 и Th2 цитокинов провоспалительного и иммунорегуляторного действия (Khan et al., 2021).

НКТ – довольно гетерогенная популяция лимфоцитов и с функциональной, и с фенотипической точек зрения. Большая часть НКТ, называемых инвариантными (iNKТ) или НКТ типа I, имеет специфическую перестройку α -цепи TCR (V α 24- J α 18 у людей), связанную с очень ограниченным разнообразием цепей V β (V β 11 у людей)

(Khan et al., 2021). Фенотипически инвариантные NKT у людей могут быть $CD3^+CD56^+CD4^+$, $CD3^+CD56^+CD8^+$, а также $CD4^-$ и $CD8^-$ дважды негативными (DN) – $CD3^+CD56^+CD4^-CD8^-$ (Montoya et al., 2007). Как $CD4^+$, так и $CD8^+$ экспрессируются на тимических инвариантных NKT, но подгруппа $CD4^+$ клеток при этом преобладает. В то же время в периферической крови наблюдается увеличение доли $CD8^+$ и DN клеток данной группы (Baev et al., 2004). $CD4^+$ клетки продуцируют как Th1, так и Th2 цитокины, в то время как $CD8^+$ клетки обычно продуцируют только Th1 цитокины (Kim et al., 2002). Другие эффекторные функции инвариантных NKT включают высвобождение перфорины/гранзима и проявления цитотоксичности, опосредованной Fas/FasL (Godfrey et al., 2011).

Роль инвариантных NKT в борьбе с вирусными инфекциями в настоящее время сомнений не вызывает. При этом, учитывая отсутствие вирусных липидных антигенов, доступных для презентации с участием CD1d, способность инвариантных NKT участвовать в защите от вирусных инфекций реализуется благодаря их свойству активироваться только под влиянием цитокинов антигенпрезентирующих клеток (Wang et al., 2012), при этом зрелым инвариантным NKT для поддержания функциональной активности требуется IL-15 (Gordy et al., 2011). В контексте данной работы интересно также отметить, что у $CD8^+$ инвариантных NKT отмечена способность к экспрессии NKG2D (Kim et al., 2002), благодаря чему они могут активироваться путем распознавания стрессовых клеток через молекулы, подобные МНС, такие как MICA и MICB (Kuylenskierna et al., 2011).

Возбудителей геморрагической лихорадки с почечным синдромом в перечне вирусов, способных, по данным литературы, индуцировать противовирусную активность NKT, в доступной литературе мы не обнаружили. Тем не менее, в наших исследованиях в олигоурический и полиурический периоды заболевания было установлено многократное нарастание в крови количества NKT с фенотипом $CD3^+CD56^+CD8^+$. Судя по представленным выше данным литературы, NKT названного фенотипа могут подвергаться пролиферации по действием сигналов, полученных через рецептор NKG2D при поддержке IL-15, отвечая на эти сигналы продукцией цитокинов Th1 типа, а также цитотоксическим воздействием на клетки-мишени (клетки в состоянии стресса), что способствует росту эффективности клеточных реакций противовирусного иммунного ответа.

Схема патогенеза ГЛПС, отражающая блок новых данных, установленных в

ходе настоящего исследования и интерпретированных с использованием данных научной литературы, представлена на *рисунке 10*.

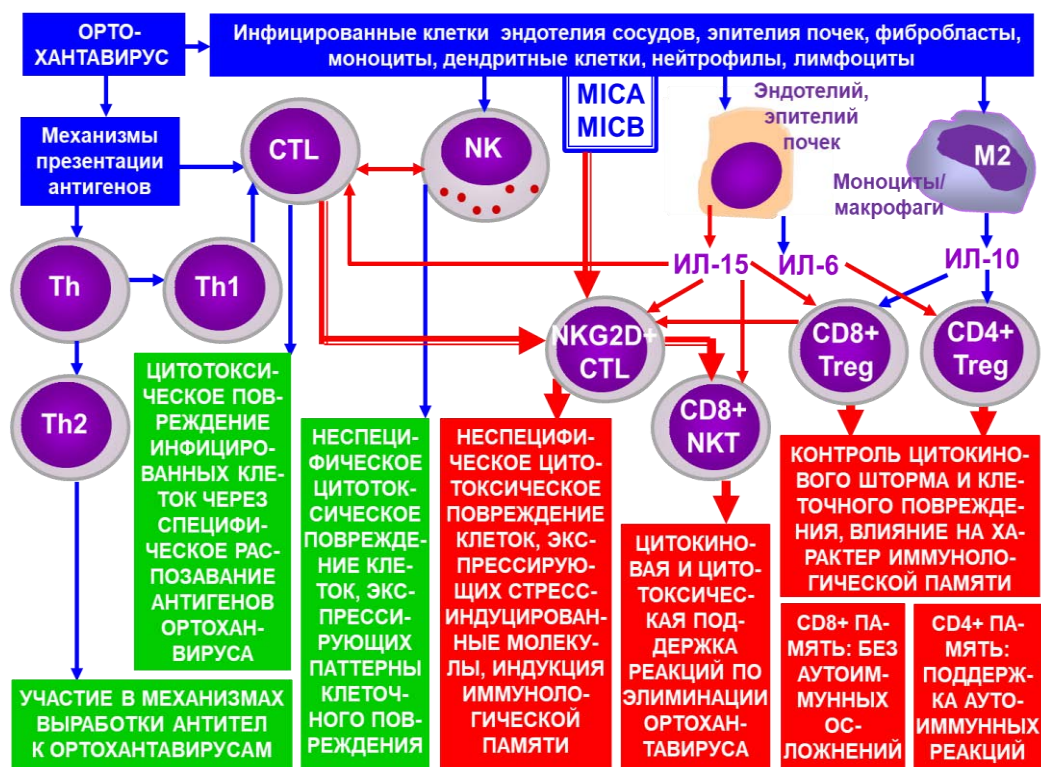


Рисунок 10 - Блок-схема по новизне полученных данных

Выводы

1. Пусковые механизмы иммунного процесса в ответ на ортохантавирус *Puumala* при развитии геморрагической лихорадки с почечным синдромом включают ключевую роль цитотоксических Т-лимфоцитов с высоким уровнем экспрессии рецептора NKG2D и фенотипом $CD3^+CD8^+CD56^+CD314^+$ при регуляторном значении IL-15 и контроле со стороны регуляторных Т-клеток с фенотипом $CD3^+CD8^+CD25^+FoxP3^+$.
2. Эффективность системы ранних маркеров геморрагической лихорадки с почечным синдромом при дифференциальной диагностике с острыми респираторными вирусными инфекциями значительно возрастает при использовании «раннего неспецифического интегрального показателя» геморрагической лихорадки с почечным синдромом, значения которого $<91,5$ с высокой диагностической значимостью свидетельствуют в пользу геморрагической лихорадки с почечным синдромом.
3. В особенности пусковых механизмов иммунного ответа при геморрагической лихорадке с почечным синдромом, влияющих на тяжесть течения заболевания, входит изменение соотношения Т-лимфоцитов следующих фенотипов:

$CD3^+CD4^+/CD3^+CD8^+$ в пользу $CD3^+CD4^+$, $CD3^-CD16^+CD56^+/CD3^+CD8^+CD56^-$ в пользу $CD3^-CD16^+CD56^+$, $CD3^+CD4^+CD25^+FoxP3^+/CD3^+CD8^+CD25^+FoxP3^+$ в пользу $CD3^+CD8^+CD25^+FoxP3^+$.

4. Для прогнозирования риска тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом в начальный период заболевания высоко эффективен «прогностический критерий тяжелого течения» геморрагической лихорадки с почечным синдромом, значения которого ≥ 19 оцениваются как критерий риска тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом.
5. Особенностью иммунного реагирования пациентов на возбудителей геморрагической лихорадки с почечным синдромом в разгар заболевания является значительный рост НКТ с фенотипом $CD3^+CD56^+CD8^+$, поддерживающих реакции врожденного иммунитета через цитотоксическое воздействие и продукцию цитокинов клеточного иммунного ответа.
6. Вновь разработанная схема иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом в качестве ключевого механизма развития иммунного процесса рассматривает значительный рост NKG2D-зависимого реагирования со стороны цитотоксических Т-лимфоцитов с фенотипом $CD3^+CD8^+CD56^-CD314^+$, поддерживаемого высоким уровнем IL-15 с его способностью к стимуляции пула $CD8^+$ клеток с функциями иммунологической памяти, и при контроле функций этих лимфоцитов со стороны регуляторных Т-клеток с фенотипом $CD3^+CD8^+CD25^+FoxP3^+$.
7. В соответствии с вновь разработанной схемой иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом отмечено влияние на протективные функции иммунной системы соотношения регуляторных Т-клеток с фенотипами $CD3^+CD4^+CD25^+FoxP3^+$ и $CD3^+CD8^+CD25^+FoxP3^+$, благодаря их дифференцированному участию в механизмах формирования иммунологической памяти, а также поддержки реакций по элиминации вируса с участием НКТ с фенотипом $CD3^+CD8^+CD56^+$, экспрессирующих NKG2D.

Практические рекомендации

1. Больным с подозрением на ГЛПС (первая неделя заболевания) целесообразно включать в программу обследования кроме рутинных лабораторных показателей исследование крови с определением следующих иммунологических показателей: процент натуральных киллеров среди лимфоцитов крови, процент В-лимфоцитов

среди лимфоцитов крови, процент и относительное число $CD3^+CD8^+CD56^-CD314^+$ клеток среди лимфоцитов крови, процент $CD3^+CD4^+FoxP3^+$ клеток среди лимфоцитов крови, относительное число $CD3^+CD8^+FoxP3^+$ лимфоцитов в крови, уровень в крови IL-15. Выявленные нарушения в полученных данных являются дополнительным основанием к проведению оценки прогноза степени тяжести ГЛПС.

2. При проведении ранней лабораторной диагностики ГЛПС (на первой неделе заболевания до наступления сероконверсии) пациентам рекомендуется определять ранний неспецифический интегральный показатель с помощью следующей формулы:

$$\text{РНИП ГЛПС} = 1,65 + 0,395 * [\text{тромбоциты}] - 0,209 * [\text{моноциты}] + 0,531 * [\text{АЛТ}] - 0,785 * [\text{АСТ}] + 0,114 * [\gamma\text{ГТП}] + 0,128 * [\text{креатинин}] + 0,145 * [\text{NK}] - 0,142 * [\text{В-лф}] + 0,127 * [\text{NKG2D}^+ \text{CTL}] + 0,156 * [\text{CD4}^+ \text{Treg}] - 0,13 * [\text{IL-15}],$$

где РНИП - ранний неспецифический интегральный показатель ГЛПС, * - знак умножения, тромбоциты - число тромбоцитов в 1л крови/10⁹, моноциты - процент моноцитов среди лейкоцитов крови, АЛТ - активность аланинаминотрансферазы в крови в ЕД/л, АСТ - активность аспартат-аминотрансферазы в крови в ЕД/л, γ ГТП - активность γ -глутамилтранспептидазы в крови в ЕД/л, креатинин - уровень креатинина в крови в ммоль/л, NK - процент натуральных киллеров среди лимфоцитов крови, В-лф - процент В-лимфоцитов среди лимфоцитов крови, $NKG2D^+$ CTL - процент $CD3^+CD8^+CD314^+$ клеток среди лимфоцитов крови, $CD4^+$ Treg - процент $CD3^+CD4^+CD25^+FoxP3^+$ клеток среди лимфоцитов крови, IL-6 - уровень IL-6 в крови в пг/мл.

Значения РНИП ГЛПС $\leq 91,5$ на первой неделе заболевания свидетельствует в пользу ГЛПС с очень высокой диагностической значимостью, площадь под ROC-кривой AUC = 0,939 при максимуме 1.

3. Больным ГЛПС рекомендуется проводить оценку прогноза тяжелого течения ГЛПС в лихорадочный период заболевания по формуле:

$$\text{ПКТТ ГЛПС} = 2,015 + 0,072 * [\text{АЛТ}] + 0,516 * [\text{мочевина}] + 0,364 * [\text{NKG2D}^+ \text{CTL}] - 0,381 * [\text{CD8}^+ \text{регуляторные Т-клетки}],$$

где ПКТТ - прогностический критерий тяжелого течения, * - знак умножения, АЛТ - активность аланинаминотрансферазы в крови в ЕД/л, мочевины - уровень мочевины в крови в ммоль/л, $NKG2D^+$ CTL - относительное число $CD3^+CD8^+CD314^+$ лимфоцитов в крови, $CD8^+$ регуляторные Т-клетки - относительное число $CD3^+CD8^+CD25^+FoxP3^+$ лимфоцитов в крови.

При значениях ПКТТ ГЛПС ≥ 19 у больного прогнозируют развитие тяжелого течения заболевания с практически абсолютной прогностической значимостью, площадь под ROC-кривой $AUC = 1,0$ при максимуме 1.

4. На первой неделе заболевания у больных с подозрением на ГЛПС для ранней лабораторной диагностики, а также у больных с установленным диагнозом ГЛПС для прогнозирования тяжелого течения болезни рекомендуется использовать программу для ЭВМ «Калькулятор ранней лабораторной диагностики и прогнозирования тяжелого течения ГЛПС».

Перспективы дальнейшей разработки темы

В диссертационном исследовании раскрыт иммунный механизм с участием $NKG2D^+$ цитотоксических лимфоцитов при ГЛПС, который широко обсуждается при опухолевых заболеваниях, но не описан при ортохантавирусных инфекциях, в связи с этим результаты диссертационного исследования могут использоваться для уточнения патогенеза и при других инфекционных процессах.

При ГЛПС данные, полученные в процессе исследования, в дальнейшем можно использовать для разработки таргетной терапии этого заболевания, где мишенью воздействия моноклональных антител со свойствами агонистов или антагонистов могут служить молекулы $NKG2D$.

Существует также перспектива разработки направления по роли $CD4^+$ и $CD8^+$ регуляторных Т-клеток в механизмах формирования иммунологической памяти, что может создать основу для получения адъювантов при создании нового поколения вакцинных препаратов с целью профилактики ГЛПС.

Список публикаций по теме диссертации

Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ (по специальности 3.2.7. Иммунология) и/или индексируемых в международных базах данных WoS, Scopus, RSCI

1. **Иванов, М.Ф.** Иммунный ответ при геморрагической лихорадке с почечным синдромом различной степени тяжести / **М.Ф. Иванов**, Е.П. Ефратова, И.П. Балмасова // Аллергология и иммунология. – 2017. – Т. 18, №3. – С. 147-151. (ВАК, ИФ РИНЦ – 0.52)
2. **Иванов, М.Ф.** Фенотипические особенности лимфоцитов при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / **М.Ф. Иванов**, И.П. Балмасова, Ж.П. Васнева // Georgian Medical News. – 2017. – № 5 (266). – P. 104-110. (IF Scopus – 0.14, Q4)

3. Clinical-immunological features of hemorrhagic fever with renal syndrome / I.P. Balmasova, **M.F. Ivanov**, E.S. Malova, R.I. Sepiashvili // International Journal on Immunorehabilitation. – 2018. – Vol. 20, No 1. – P. 27-29. (ВАК, ИФ РИНЦ – 0.01)
4. **Ivanov, M.F.** Immunological features of hemorrhagic fever with renal syndrome / **M.F. Ivanov**, I.P. Balmasova, R.I. Sepiashvili // International Journal on Immunorehabilitation. – 2018. – Vol. 20, No 2. – P. 84-86. (ВАК, ИФ РИНЦ – 0.01)
5. Иммунопатогенетические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом в динамике инфекционного процесса / **М.Ф. Иванов**, А.В. Жестков, А.А. Суздальцев, Л.Л. Попова, И.П. Балмасова // Российский иммунологический журнал. – 2019. – Т. 13, № 2-1 (22). – С. 281-283. (IF Scopus - 0.16, Q4; PubMed; ИФ РИНЦ – 0.27)
6. **Иванов, М.Ф.** Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом: гуморальный иммунный ответ / **М.Ф. Иванов**, И.П. Балмасова, Е.С. Малова, Р.И. Сепиашвили // Аллергология и иммунология. – 2020. – Т. 21, № 1. – С. 5-11. (ВАК, ИФ РИНЦ – 0.15)
7. **Иванов, М.Ф.** Иммунопатогенетические особенности и прогностические критерии тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом / **М.Ф. Иванов**, И.П. Балмасова, А.В. Жестков // Вестник РУДН. Серия: Медицина. – 2020. – № 3. – С. 207-217. (IF Scopus - 0.12, Q4; ВАК, ИФ РИНЦ – 0.51)
8. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом как социально значимая природно-очаговая инфекция [электронный ресурс] / **М.Ф. Иванов**, И.П. Балмасова, Д.Ю. Константинов, Е.С. Малова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2023. – №3 (129). – URL: <https://research-journal.org/archive/3-129-2023-march/10.23670/IRJ.2023.129.6> (дата обращения: 17.03.2023). – <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.129.6> (GeoRef)
9. **Иванов, М.Ф.** Патогенетическая роль цитокинов при геморрагической лихорадке с почечным синдромом в динамике и при различной степени тяжести / **М.Ф. Иванов**, И.П. Балмасова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2023. – Т. 100, №3. – С. 176 – 185. DOI: 10.36233/0372-9311-381 (IF Scopus - 0.19, Q4; RSCI; ВАК, К-2; ИФ РИНЦ – 1.70)
10. Прогностическое значение фенотипических изменений лимфоцитов при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / **М.Ф. Иванов**, И.П. Балмасова, А.В. Жестков, Д.Ю. Константинов, Е.С. Малова //

- Иммунология. – 2023. – Т. 44, №2. – С. 181-190. DOI: 10.33029/0206-4952-2023-44-2-181-190 (*IF Scopus - 0.16, Q4; RSCI; ИФ РИНЦ – 1.21*)
11. Цитокины как регуляторы системного воспаления при геморрагической лихорадке с почечным синдромом [электронный ресурс] / **М.Ф. Иванов**, Д.Ю. Константинов, И.П. Балмасова, А.Ю. Улитина // Международный научно-исследовательский журнал. – 2023. – №8 (134). – URL: <https://research-journal.org/archive/8-134-2023-august/10.23670/IRJ.2023.134.36> (дата обращения: 07.09.2023). – DOI: 10.23670/IRJ.2023.134.36 (*GeoRef*)
 12. Экспрессия NKG2D цитотоксическими Т-лимфоцитами как возможный механизм иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом / **М.Ф. Иванов**, И.П. Балмасова, А.В. Жестков, Д.Ю. Константинов, Е.С. Малова // Иммунология. – 2023. – Т. 44, № 1. – С. 93–102. DOI: 10.33029/0206-4952-2023-43-1-93-102 (*IF Scopus - 0.16, Q4; RSCI; ИФ РИНЦ – 1.21*)
 13. Иммунопатогенетические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом как критерии ранней иммунодиагностики / **М.Ф. Иванов**, И.П. Балмасова, Е.С. Малова, Д.Ю. Константинов // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. – 2024. – Т. 28, № 2. – С. 265–281. DOI: 10.22363/2313–0245–2024–28–2–265–281 (*IF Scopus - 0.12, Q4; ВАК, К-2; ИФ РИНЦ – 0.425*)
- Тезисы, опубликованные в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ и/или индексируемых в международных базах данных WoS, Scopus, RSCI*
14. Клинико-иммунологические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом / И.П. Балмасова, **М.Ф. Иванов**, Е.С. Малова, Р.И. Сепиашвили // Аллергология и иммунология. – 2016. – Т. 17, № 4. – С. 270-271. (*ВАК, ИФ РИНЦ – 0.39*)
 15. **Иванов, М.Ф.** Иммунологические признаки геморрагической лихорадки с почечным синдромом / **М.Ф. Иванов**, И.П. Балмасова, Р.И. Сепиашвили // Аллергология и иммунология. – 2018. – Т. 19, № 1. – С. 40. (*ВАК, ИФ РИНЦ – 0.18*)
 16. Ivanov, M.F. Immunologic signs of hemorrhagic fever with renal syndrome / **M.F. Ivanov**, I.P. Balmasova, R.I. Sepiashvili // International Journal on Immunorehabilitation. – 2018. – Vol. 20, No 2. – P. 89. (*ВАК, ИФ РИНЦ – 0.01*)
 17. Иммунопатогенез геморрагической лихорадки с почечным синдромом в динамике инфекционного процесса / **М.Ф. Иванов**, А.В. Жестков, А.А. Суздальцев, Л.Л. Попова, И.П. Балмасова // Аллергология и иммунология. – 2019. – Т. 20, № 1. – С. 24. (*ВАК, ИФ РИНЦ – 0.06*)

18. **Иванов, М.Ф.** Иммунологическая составляющая поражения почек при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / **М.Ф. Иванов**, И.П. Балмасова, Р.И. Сепиашвили // Аллергология и иммунология. – 2021. – Т. 22, № 1. – С. 36-37. (ВАК, ИФ РИНЦ – 0.07)
19. **Иванов, М.Ф.** Иммунологические признаки геморрагической лихорадки с почечным синдромом разной степени тяжести / М.Ф. Иванов, И.П. Балмасова, А.В. Жестков // Аллергология и иммунология. – 2021. – Т. 22, № 1. – С. 47. (ВАК, ИФ РИНЦ – 0.07)

*Патенты и свидетельства о государственной регистрации программ
для ЭВМ*

20. Патент RU 2790962 С1 Российская Федерация, МПК G01N 33/49. G01N 33/50. G01N 33/573. G01N 33/62. Способ прогнозирования тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом на ранних этапах заболевания / **М.Ф. Иванов**, И.П. Балмасова, А.В. Жестков, Д.Ю. Константинов, С.Н. Чемидронов; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Самарский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации. – № 2022116619; заявл. 20.06.22; опубл. 28.02.23, Бюл. № 7. – 3 ил., 1 табл., 2 пр.
21. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2023662769 Российская Федерация. Калькулятор ранней лабораторной диагностики и прогнозирования тяжелого течения ГЛПС: № 2023661581: заявл. 02.06.2023; опубл. 14.06.2023 Бюл. №6 / **М.Ф. Иванов**, А.Ю. Улитина, И.П. Балмасова [и др.]; правообладатель Г.В. Недугов. – 1 с.

Публикации в других изданиях

22. **Иванов, М.Ф.** Реакция лимфоцитов различных фенотипов на поражение почек при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / **М.Ф. Иванов**, Е.П. Ефратова, И.П. Балмасова // Медицина, фармацевтика, здоровье-2017: сб. трудов международной научной конференции (Москва, 10 ноября 2017 г.) – Москва, 2017. - С. 58-64.
23. Clinical and immunological features of hemorrhagic fever with renal syndrome / I.P. Balmasova, **M.F. Ivanov**, E.S. Malova, R.I. Sepiashvili // Allergy, Asthma, COPD, Immunophysiology & Rehabilitology: Innovative Technologies: Proceedings. – Bologna, 2017. – P. 189-194.
24. Immune pathogenesis of hemorrhagic fever with renal syndrome at various stages of the infection / **M.F. Ivanov**, A.V. Zhestkov, A.A. Suzdal'cev, L.L. Popova, I.P. Balmasova // Allergy, Asthma, COPD, Immunophysiology &

- Immunorehabilitology: Innovative Technologies: Proceedings. – Bologna, 2019. – P. 315-321.
25. The role of innate and adaptive immune response lymphocytes in pathogenesis of hemorrhagic fever with renal syndrome / **M.F. Ivanov**, I.P. Balmasova, A.V. Zhestkov, L.A. Rogozina // *Acta Scientific Medical Sciences*. – 2019. – Vol. 3, No 8. – P. 120-125.
 26. Иванов, М.Ф. Особенности противовирусного иммунного ответа на ранних стадиях геморрагической лихорадки с почечным синдромом / **М.Ф. Иванов**, А.В. Жестков, И.П. Балмасова // III объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов: VII Съезд биохимиков России, X Российский симпозиум «Белки и пептиды», VII Съезд физиологов СНГ: научные труды (Сочи, Дагомыс, 3–8 октября 2021). – Москва: Издательство «Перо», 2021. - Том 1. – С. 67.
 27. Ivanov, M.F. Immune component of kidney injury in hemorrhagic fever with renal syndrome / **M. Ivanov**, I. Balmasova, R. Sepiashvili / *Allergy & Asthma, COVID-19 & COPD, Immunophysiology & Immunorehabilitology: Innovative Technologies: Proceedings*. – Bologna, 2021. – P. 123-128.
 28. Ivanov, M.F. Immunological signs of hemorrhagic fever with renal syndrome of different severity / **M. Ivanov**, I. Balmasova, A. Zhestkov / *Allergy & Asthma, COVID-19 & COPD, Immunophysiology & Immunorehabilitology: Innovative Technologies: Proceedings*. – Bologna, 2021. – P. 129-133.
 29. **Иванов, М.Ф.** Роль иммунных механизмов в патогенезе геморрагической лихорадки с почечным синдромом / **М.Ф. Иванов** // *Аспирантский вестник Поволжья*. – 2023. – Т. 23, № 3. – С. 4-12. DOI: 10.55531/2072-2354.2023.23.3.4-12
 30. Патогенетическое значение CD3+CD56+ Т-лимфоцитов при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / **М.Ф. Иванов**, Д.Ю. Константинов, И.П. Балмасова, А.Ю. Улитина // *Наука и инновации в медицине*. –2023.– Т.8, №3. – С. 176-180. DOI: 10.35693/2500-1388-2023-8-3-176-180
 31. Роль иммунных механизмов в поражении почек при геморрагической лихорадке с почечным синдромом / **М.Ф. Иванов**, Д.Ю. Константинов, И.П. Балмасова, А.Ю. Улитина // *Вестник медицинского института «РЕАВИЗ». Реабилитация, Врач и Здоровье*. – 2023. – Т.13, №3. – С. 93-98. DOI: 10.20340/vmi-rvz.2023.3.CLIN.11

Список сокращений

АЛТ - аланинаминотрансфераза	AUC - площадь под ROC-кривой
АСТ - аспаргатаминотрансфераза	CD - кластер дифференцировки при фенотипировании лимфоцитов
ГЛПС - геморрагическая лихорадка с почечным синдромом	CTL - цитотоксические Т-лимфоциты
ГГТП - γ -глутамилтранспептидаза	FoxP3 - внутриклеточный маркер регуляторных Т-клеток
ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота	IFN - интерферон
ИФА - иммуноферментный анализ	IL - интерлейкин
ЛДГ - лактатдегидрогеназа	NK - натуральные киллеры
МКАТ - моноклональные антитела	NKT - Т-лимфоциты, несущие маркер натуральных киллеров CD56
ОПП - острое повреждение почек	ROC - график, отражающий соотношение чувствительности и специфичности параметра
ПКТТ - прогностический критерий тяжести течения	TLR - паттернраспознающие Toll-подобные рецепторы
ПЦР - полимеразная цепная реакция	TNF - фактор некроза опухолей
РНИП - ранний неспецифический интегральный показатель	Treg - регуляторные Т-клетки
РНИФ - реакция непрямой иммунофлуоресценции	
РНК - рибонуклеиновая кислота	
СОЭ - скорость оседания эритроцитов	

ИВАНОВ

Михаил Федорович

ИММУНОПАТОГЕНЕЗ И ИММУНОДИАГНОСТИКА ГЕМОМРАГИЧЕСКОЙ ЛИХОРАДКИ С ПОЧЕЧНЫМ СИНДРОМОМ

3.2.7. Иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук