

На правах рукописи

Антошина Мария Алексеевна

**ФЕНОМЕНОЛОГИЯ СТРУКТУРНОГО И
ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СТАТУСА ЛИМФОЦИТОВ ПРИ
ХРОНИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЯХ, ВЫЗВАННЫХ
РНК-СОДЕРЖАЩИМИ ВИРУСАМИ**

14.00.16 – патологическая физиология
03.00.25 – гистология, цитология, клеточная биология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск - 2005

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научные руководители:

доктор медицинских наук,
профессор, академик РАМН,
Заслуженный деятель науки РФ

Новицкий
Вячеслав Викторович

доктор медицинских наук

Рязанцева
Наталья Владимировна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
профессор

Степовая
Елена Алексеевна

кандидат медицинских наук,
старший научный сотрудник

Фомина
Татьяна Ивановна

Ведущая организация:

ГОУ ВПО Новосибирская государственная медицинская академия
Росздрава

Защита состоится «__» июня 2005 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при Сибирском государственном медицинском университете (634050, Томск, ул. Московский тракт, 2)

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, Томск, пр. Ленина, 107)

Автореферат разослан «__» мая 2005 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Суханова Г.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Персистентные вирусные инфекции представляют собой одну из актуальных научно-медицинских проблем современности, что обусловлено чрезвычайно широким их распространением. Установлена способность РНК-содержащих вирусов семейства Flaviviridae, к которым относятся вирусы гепатита С и клещевого энцефалита, к формированию и поддержанию персистенции в организме хозяина и перехода инфекционного процесса в хроническую форму [Маянский А.Н. и соавт., 1998; Гавришева Н.А., Антонова Т.В., 1999; Антонов П.В., Цинзерлинг В.А., 2001; Аммосов А.Д., 2002; Жукова О.Б. и соавт., 2003; Gould E.A. et al., 2004].

Примерно в 80% случаев инфицирования организма вирусом гепатита С инфекция трансформируется в хроническое носительство, которое может прогрессировать с исходом в цирроз или гепатокарциному. Столь высокий процент хронизации инфекционного процесса обусловлен уникальной способностью вируса к генетической изменчивости, в результате которой иммунокомпетентные клетки оказываются не в состоянии распознать непрерывно обновляющиеся антигены [Boot J.C.L. et al., 2001; Приймаги Л.С. и соавт., 2002; Pavio N., Lai M.M., 2003; Лисукова Т.Е. и соавт., 2004; Mateescu R.V. et al., 2004; Карпов С.Ю., Крель П.Е., 2005]. По прогнозам ВОЗ, в ближайшие 10-20 лет среди больных хроническим вирусным гепатитом С заметно увеличится число пациентов с циррозом печени, гепатокарциномой, печеночной декомпенсацией; смертность от заболеваний печени может возрасти в 2 раза [Лисукова Т.Е. и соавт., 2004].

Способностью к длительной персистенции обладает вирус клещевого энцефалита, вызывающий развитие острой, субклинической и хронической форм инфекции и наделенный нейро- и лимфотропностью [Жукова Н.Г. и соавт., 2000; Иерусалимский А.П., 2003; Gritsun T.S. et al., 2003]. Несмотря на проводимые профилактические мероприятия, клещевой энцефалит регистрируется во многих странах Европы и Азии, с высокой частотой встречаясь в России [Злобин В.И. и соавт., 2001; Жукова Н.Г. и соавт., 2002; Calza L. et al., 2004]. Важность проблемы длительной персистенции вируса клещевого энцефалита обусловлена чрезвычайно широким распространением, патоморфозом клинического течения клещевого энцефалита и тяжелыми осложнениями инфекционного процесса.

В изучении патогенеза вирусных инфекций основное место занимает проблема взаимодействия между вирусом и клеткой-хозяином. Адекватный иммунный ответ обеспечивает элиминацию вирусов из организма;

недостаточная интенсивность иммунного воспаления, напротив, способствует персистенции вирусной инфекции. Патогенетически значимые свойства вирусов клещевого энцефалита и гепатита С связаны с их способностью поражать лимфоциты и модулировать иммунный ответ хозяина, что приводит к развитию вторичного иммунодефицита, проявляющегося дисбалансом иммунных функций [Ратникова Л.И. и соавт., 2002; Курамшин Д.Х. и соавт., 2004; Серов В.В. и соавт., 2004].

Механизмы персистенции вирусов могут реализовываться за счет непосредственного действия на иммунокомпетентные клетки; межклеточной передачи возбудителя; заражения клеток, не подлежащих иммунному надзору; возникновения антигенных вариаций; инфицирования клеток дефектными интерферирующими частицами и нецитопатогенными клонами; блокады цитокинов и их рецепторов; модуляции эффекторных иммунных реакций, а также модуляции апоптоза [Ройт А. и соавт., 2000; Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2000; Ивашкин В.Т. и соавт., 2001; Дмитриева Е.В. и соавт., 2003].

На сегодняшний день нет единого мнения о влиянии вирусов на процесс программированной клеточной гибели. По мнению А.А. Ярилина [1998], при персистентных вирусных инфекциях сосуществуют факторы, ингибирующие и индуцирующие апоптоз. Дефект апоптотической гибели при вирусных инфекциях является одной из причин повышенной жизнеспособности инфицированных клеток, что в свою очередь приводит к хронизации процесса и обуславливает недостаточную эффективность терапии [Белушкина Н.Н., 2001; Райхлин Н.Т., Райхлин А.Н., 2002; Дмитриева Е.В. и соавт., 2003; Kountouras J. et al., 2003; Siavoshian S. et al., 2005]. Утверждение о том, что персистирующие в макроорганизме вирусы могут вызывать отклонения в апоптотическом каскаде, сомнений не вызывает. Однако механизмы воздействия вирусных белков на программируемую гибель лимфоцитов носят лишь гипотетический характер.

Одним из методологических подходов, направленных на получение новых данных фундаментального характера о роли дисфункции и нарушении межклеточной кооперации иммунцитов в механизмах формирования хронических вирусных инфекций является комплексная сравнительная оценка ключевых параметров, характеризующих структурно-функциональный статус лимфоцитарных клеток при инфекционном процессе, вызванном РНК-содержащими вирусами гепатита С и клещевого энцефалита с учетом клинических особенностей инфекций.

Цель исследования: Установить общие закономерности и особенности нарушений структурных и функциональных свойств лимфоцитов периферической крови у больных с хроническими инфекциями, вызванными РНК-содержащими вирусами гепатита С и клещевого энцефалита.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие **задачи:**

1. Определить направленность клеточной дифференцировки и способность к бласттрансформации лимфоцитов периферической крови у больных, инфицированных вирусами гепатита С и клещевого энцефалита в зависимости от клинических особенностей инфекционного процесса.

2. Оценить морфологические изменения лимфоцитарных клеток у больных вирусным гепатитом С и пациентов с хронической антигенемией вируса клещевого энцефалита в зависимости от активности патологического процесса.

3. Выявить особенности экспрессии молекулярно-биологических маркеров апоптоза лимфоцитами периферической крови при хронических инфекциях, вызванных РНК-содержащими вирусами гепатита С и клещевого энцефалита.

4. Вскрыть общие закономерности реакции лимфоцитарного звена системы иммунитета в условиях длительного пребывания РНК-содержащих вирусов гепатита С и клещевого энцефалита в организме инфицированных пациентов.

Научная новизна. Впервые, с привлечением современных гематологических, иммунологических и молекулярно-биологических методов исследования, представлена феноменология структурного и функционального статуса лимфоцитов при формировании персистентных вирусных инфекций, вызванных РНК-содержащими вирусами гепатита С и клещевого энцефалита с учетом активности и длительности патологического процесса. Показано, что у пациентов с хроническим носительством вируса клещевого энцефалита и больных хроническим вирусным гепатитом С снижено количество CD3⁺-, CD4⁺-, CD56⁺-лимфоцитов и иммунорегуляторный индекс (CD4⁺/CD8⁺), повышена пролиферативная активность лимфоцитарных клеток. Получены новые данные, свидетельствующие о том, что при хронических инфекциях, вызванных РНК-содержащими вирусами клещевого энцефалита и гепатита С, нарушена поверхностная архитектоника лимфоцитов, что проявляется значительным увеличением числа лимфоцитов со складчатым микрорельефом, с пузырьками и выростами на поверхности, а также снижением содержания

клеток с гладкой поверхностью и появлением лимфоцитов с комбинированным микрорельефом, не выявленных у здоровых доноров.

Показано, что персистентное течение вирусных инфекций, вызванных РНК-содержащими вирусами семейства *Flaviviridae*, сопровождается увеличением числа CD95⁺-лимфоцитов, что свидетельствует о повышении апоптотического потенциала лимфоцитарных клеток. В то же время установлено, что реализация программируемой клеточной гибели лимфоцитов у больных хроническим вирусным гепатитом С нарушена, а у пациентов с хронической антигенемией вируса КЭ усилен спонтанный апоптоз.

Практическая значимость. Полученные данные расширяют накопленные в мировой литературе сведения о механизмах хронизации вирусных инфекций, вызванных РНК-содержащими вирусами гепатита С и клещевого энцефалита. Основные положения работы могут быть использованы для дальнейшего изучения патогенетических механизмов формирования персистентных вирусных инфекций и разработки новых способов коррекции иммунных нарушений при инфекционных процессах, индуцированных РНК-содержащими вирусами.

Положения, выносимые на защиту:

1. Хронические вирусные инфекции, вызванные РНК-содержащими вирусами гепатита С и клещевого энцефалита, сопровождаются дисбалансом Т-клеточного звена (снижение относительного количества CD3⁺-, CD4⁺- и CD56⁺-лимфоцитов, иммунорегуляторного индекса (CD4⁺/CD8⁺)), дезорганизацией поверхностного микрорельефа и усилением пролиферативной активности лимфоцитов.

2. Изменения структурно-функциональных свойств лимфоцитов у больных хроническим вирусным гепатитом С слабовыраженной и умеренной степеней активности и у пациентов с хронической антигенемией вируса клещевого энцефалита носят однотипный характер независимо от степени активности и длительности течения инфекционного процесса.

3. Повышение количества CD95⁺-клеток при хронических инфекциях, вызванных РНК-содержащими вирусами, свидетельствует об усиленной апоптотической предуготовленности лимфоцитов. Однако, если при хронической антигенемии вируса клещевого энцефалита количество лимфоцитарных клеток, подвергшихся спонтанному апоптозу повышено, то при хроническом вирусном гепатите С число апоптотических лимфоцитов снижено.

Апробация и реализация работы. Результаты проведенных исследований докладывались и обсуждались на научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения академика АМН СССР С.П. Карпова (Томск, 2003), VI-м Всероссийском съезде «Врачей инфекционистов» (Санкт-Петербург, 2003), V-м Международном конгрессе молодых ученых и специалистов «Науки о человеке» (Томск, 2004), Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии» (Санкт-Петербург, 2004), III-м Всероссийском конгрессе по патофизиологии «Дизрегуляторная патология органов и систем (экспериментальная и клиническая патофизиология)» (Москва, 2004), II-й Всероссийской научно-практической конференции «Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные, экологические и клинические аспекты» (Новосибирск, 2004).

Результаты исследования используются в лекционном курсе по патологической физиологии (разделы «Патофизиология инфекционного процесса», «Патофизиология иммунной системы») и микробиологии (раздел «Вирусы семейства Flaviviridae») для студентов лечебного и педиатрического факультетов ГОУ ВПО СибГМУ Росздрава.

В работе приводятся результаты исследований, поддержанных Советом по грантам при Президенте РФ для ведущих научных школ РФ (НШ-1051.2003.4) «Молекулярные механизмы нарушений структуры, метаболизма и функций клеток крови при патологии» и Администрацией Томской области (договор №136 от 23.09.2004) «Создание и внедрение панели молекулярно-генетических маркеров для прогнозирования течения и исхода вирусных гепатитов».

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 20 печатных работ: 7 статей в центральных рецензируемых журналах «Перечня ...» ВАК, 1 статья в зарубежной печати, 12 статей и тезисов в материалах конгрессов, конференций, съездов.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов и списка литературы. Библиографический указатель включает 271 источник, из них 164 отечественных и 107 иностранных. Работа иллюстрирована 13 рисунками и 34 таблицами.

ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящей работе приведены результаты комплексного клинико-лабораторного обследования 126 пациентов (79 мужчин, 47 женщин в возрасте от 18 до 50 лет, средний возраст - 33 ± 4 лет) с длительной персистенцией вируса гепатита С (НСV) и клещевого энцефалита (КЭ). Все пациенты находились на диспансерном учете и стационарном лечении в отделении гастроэнтерологии Томской областной клинической больницы, инфекционном отделении госпитальных клиник ГОУ ВПО «СибГМУ Росздрава», инфекционного отделения МЛПУ медико-санитарной части «Строитель» г. Томска. Контрольную группу составил 41 практически здоровый донор с аналогичными характеристиками по полу и возрасту.

В зависимости от этиологического фактора обследованные пациенты были разделены на две группы: первую группу составили 95 пациентов с хроническим вирусным гепатитом С (ХВГ С), вторую – 31 пациент с хронической антигенемией вируса КЭ (таблица).

Клинически и анамнестически у всех обследованных лиц были исключены инфекционные заболевания другой этиологии, обострение хронических воспалительных процессов, наследственные и психические болезни, а также злоупотребление алкоголем и наркотическая зависимость.

В программу исследования были включены 95 больных, страдающих вирусным гепатитом С (по МКБ-10 - рубрика В18.2). Все пациенты составляли группу риска по инфицированию парентеральным вирусным гепатитом (в анамнезе были оперативные вмешательства с переливанием крови и ее компонентов, лечение и удаление зубов, сексуальные контакты с больными ХВГ С, контакты с препаратами крови и больными ХВГ С у медицинских работников).

Диагноз ХВГ С основывался на выявлении синдромов гепато- и спленомегалии, холестаза, цитолиза (повышение уровня АлАТ, АсАТ в сыворотке крови), а также мезенхимально-воспалительного синдрома. Верификация диагноза проводилась на основании выявления в сыворотке крови РНК НСV (методом ПЦР), серологических маркеров НСV (анти-НСV IgG к core, С – протеину, неструктурным белкам (NS3, NS4, NS5), анти-НСV IgM).

По выраженности некроза паренхимы биоптатов печени и воспалительной клеточной инфильтрации определяли степень активности хронического гепатита, оценивая выраженность гистологических признаков в

Распределение обследованных пациентов в соответствии с использованными методами исследования

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ		ГРУППЫ ОБСЛЕДОВАННЫХ				
		Здоровые доноры	Пациенты с хроническим вирусным гепатитом С		Пациенты с хронической антигемией вируса клещевого энцефалита	
			слабовы- раженной степени активности	умеренной степени активности	без клинической симптома- тики	с клиничес- кими проявлени- ями нейро- инфекции
Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови		20	18	16	12	11
Исследование пролиферативной активности моноклеаров периферической крови		16	12	22	12	12
Исследование поверхностной архитектоники и ультраструктуры лимфоцитов периферической крови		11	12	11	10	11
Исследование апоптоза лимфоцитов периферичес- кой крови	Экспрессия CD95- рецептора	19	16	15	10	9
	Экспрессия фосфатидил- серина	19	15	10	9	9

баллах в соответствии с предложенным R.J. Knodell et al. [1981] «Индексом гистологической активности». На основании этого были выделены две клинические группы: 1) больные ХВГ С слабовыраженной степени активности – 38 человек, 2) больные ХВГ С умеренной степени активности – 57 человек.

Больные ХВГ С слабовыраженной степени активности характеризовались отсутствием клинической симптоматики поражения печени, нормальными значениями биохимических показателей. Из серологических маркеров HCV-инфекции у них выявлялись анти-HCV IgG. Метод молекулярно-генетического исследования подтверждал наличие в сыворотке крови у больных РНК HCV.

Анализ клинической картины у больных ХВГ С умеренной степени активности показал, что наиболее часто у больных выявлялся астеновегетативный синдром (70%). Диспепсический синдром (непереносимость жирной пищи, тошнота, горечь во рту, изжога, метеоризм) встречался у 53% пациентов. Часто (68%) у больных ХВГ С обнаруживался синдром холестаза (желтушное окрашивание кожи и склер, зуд,

билирубинемия). В большинстве случаев гепато- и спленомегалия, выявленные физикально, подтверждались результатами ультразвукового исследования. При анализе биохимических показателей крови ведущим был синдром цитолиза. У больных ХВГ С умеренной степени активности повышение АсАТ и АлАТ отмечалось в 82% случаев. Давность ХВГ С составляла от 1 года до 16 лет (в среднем 5 ± 2 лет). До момента обследования больные не получали этиотропной противовирусной терапии.

Пациенты, страдающие КЭ (по МКБ 10 рубрика А84.0), были объединены в группы на основании клинической классификации, предложенной Н.Г. Жуковой и соавт. [2000]. Верификацию диагноза проводили на основании данных эпидемиологического анамнеза (факт присасывания клеща, пребывание пациента в эпидемическом очаге и др.), результатов лабораторного исследования (определение уровня специфических антител к антигену вируса КЭ с помощью иммуноферментного анализа, реакции непрямой гемагглютинации; обнаружение вирусной РНК методом ПЦР), а также оценки неврологического статуса.

Первую группу обследованных составили 15 пациентов с бессимптомным носительством вируса КЭ (более 6 мес с момента инфицирования). У пациентов отсутствовали клинические симптомы заболевания, однако в крови обнаруживались РНК вируса КЭ, а также повышенный уровень специфических антител IgG.

Во вторую группу обследованных были включены 16 пациентов с хронической антигемией вируса КЭ с минимальными клиническими проявлениями нейроинфекции. Продолжительность заболевания у таких пациентов составляла от 8 до 30 мес. Примечательно, что после инфицирования вирусом КЭ у 10 больных развивалась картина лихорадочной, у 6 – стертой формы нейроинфекции. Основными клиническими проявлениями инфекции у пациентов указанной клинической группы были астеновегетативный синдром (головная боль, повышенная утомляемость) - в 96% случаев и остаточная неврологическая симптоматика (невралгия, миалгия, локальное снижение болевой чувствительности) - у 74% пациентов.

Материалом исследования служила венозная кровь обследованных лиц, взятая утром натощак. Кровь стабилизировали гепарином (25 Ед/мл).

Лимфоциты выделяли на основании разделения клеток крови по плотности, в качестве градиента плотности использовали Ficoll-Paque («Pharmacia», Швеция) [Натвиг Дж. Б., 1980; Меньшиков В.В. и соавт., 1987].

Имунофенотипирование лимфоцитов периферической крови по CD-маркерам (CD3, CD4, CD8, CD22, CD56, CD95) проводили иммуноцитохимическим методом с использованием набора реагентов фирмы «Дако» (Дания) [Тотолян А.А. и соавт., 2002]. Результаты выражали в процентных и абсолютных значениях.

Оценку пролиферативной активности лимфоцитов периферической крови проводили с помощью реакции бласттрансформации [Гольдберг Е.Д. и соавт., 1992]. Результаты теста выражали количеством неизмененных, переходных и бластных форм лимфоцитов (%) [Козинец Г.И. и соавт., 2002].

Исследование поверхностной архитектоники лимфоцитов периферической крови проводили методом сканирующей электронной микроскопии [Козинец Г.И., Симоварт Ю.А., 1984; Козинец Г.И. и соавт., 2002]. Для получения количественной характеристики распределения морфологических форм лимфоцитов подсчитывали не менее 100 произвольно выбранных клеток у каждого обследованного, используя при этом классификации Г.И. Козинца [1984, 2002] и Ю.А. Ровенского [1979] (рис. 1). Для получения электронных микрофотографий лимфоцитов выполняли фотосъемку лимфоцитарных клеток при увеличении от 4000 до 10000.

Исследование ультраструктуры лимфоцитов осуществляли методом трансмиссионной электронной микроскопии [Карупу В.Я., 1984].

Регистрацию раннего апоптоза (через 18 ч после активации) проводили с использованием аннексинового теста, основанном на факте экспрессии на поверхности клеток фосфатидилсерина [Van Engeland M. et al., 1998]. Анализ образцов клеточных суспензий проводили на проточном цитометре «Epics XL» («Beckman Coulter», Франция).

Полученные в ходе исследования данные обрабатывали с использованием стандартного пакета программ Statistica for Windows (2000, версия 6.0) фирмы «Statsoft Inc.» и пакета программ «Microsoft Excel» (2000) корпорации «Microsoft». Для всех имеющихся выборок данных проверяли гипотезу нормальности распределения (по критерию Колмогорова-Смирнова). Для каждой выборки вычисляли средневыборочные характеристики: \bar{X} - среднее арифметическое, δ – среднее квадратичное отклонение, m – ошибка среднего.

При соответствии нормальному закону распределения признака в исследуемых выборках проверку гипотезы о равенстве средних выборочных величин проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Для оценки достоверности различий выборок, не подчиняющихся критерию нормального

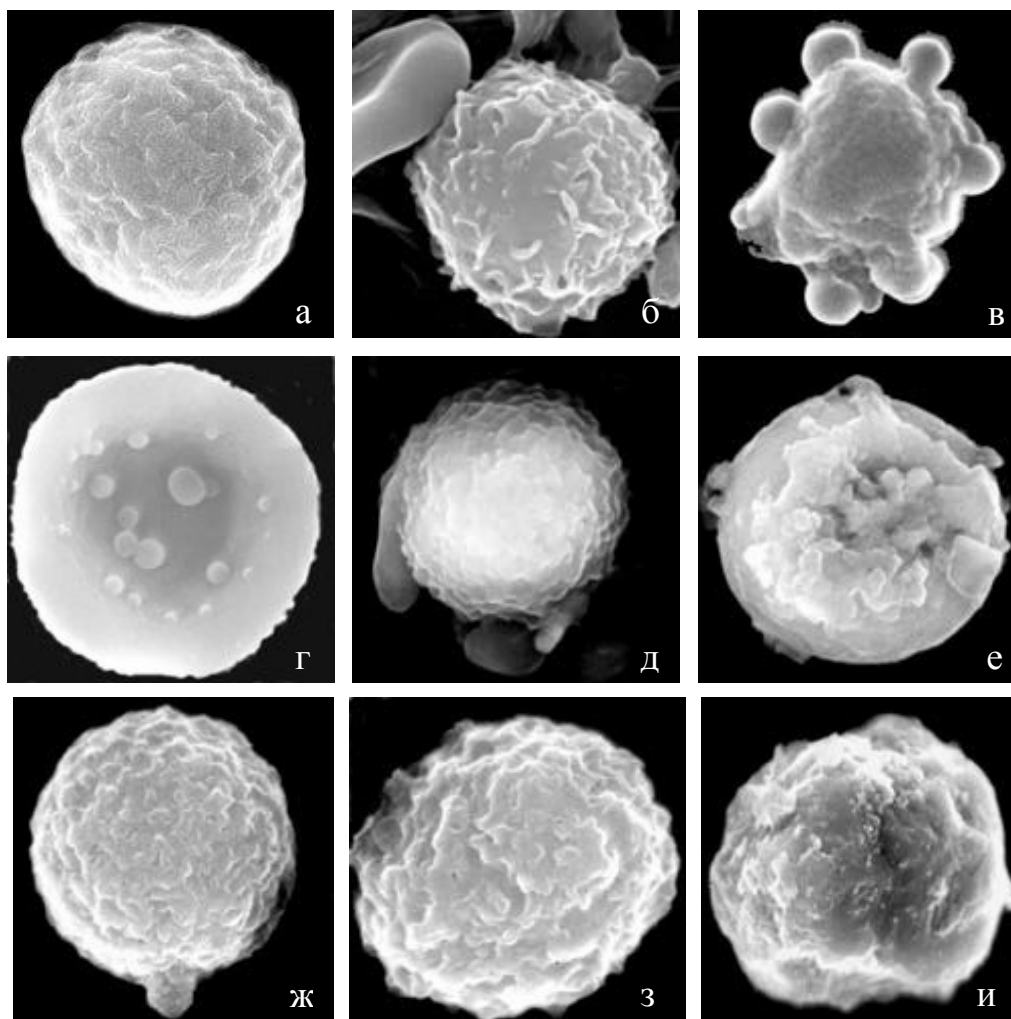


Рис. 1. Морфологические формы лимфоцитов (в соответствии с классификациями, предложенными Г.И. Козинцом [1984, 2002] и Ю.А. Ровенским [1979]). Сканирующая электронная микроскопия (а, е, ж – $\times 8000$; б, в, д – $\times 6000$; г, з, и – $\times 10000$)

а – относительно гладкий лимфоцит; б – лимфоцит с микроворсинками; в – лимфоцит со сфероидными образованиями; г – лимфоцит с углублением; д, е – ламеллярные лимфоциты; ж – лимфоцит с выростом; з – складчатый лимфоцит; и – лимфоцит с комбинированным микрорельефом

распределения, использовали критерии Манна-Уитни и Вилкоксона. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили путем вычисления r -коэффициента Спирмена. Проводили дискриминантный анализ с использованием алгоритма пошагового отбора информативных признаков. Статистическую значимость полученных дискриминантных функций оценивали с помощью λ -критерия Уилкса [Бронштейн И.Н., 1986; Лакин А.В., 1980; Боровиков В., 2001].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время персистентные вирусные инфекции представляют собой одну из актуальных медико-биологических проблем. Это обусловлено чрезвычайно широким распространением возбудителей, тяжелыми осложнениями и последствиями инфицирования для здоровья человека. Достижения современной вирусологии, генетики, иммунологии и молекулярной биотехнологии позволили идентифицировать различные виды вирусов, разработать эффективные способы их обнаружения, осуществить широкий спектр профилактических мероприятий, направленных на снижение заболеваемости вирусными инфекциями. Но многие вопросы, связанные с устойчивостью к противовирусной терапии и персистенцией вирусов, в частности возбудителей парентеральных гепатитов, КЭ, герпетических инфекций, ВИЧ-инфекции остаются нерешенными [Ивашкин В.Т. и соавт., 2004; Кочетков С.Н. и соавт., 2004; Лазебник Л.Б. и соавт., 2004]. Помимо этого, перечисленные вирусные агенты обладают иммунодепрессивными и онкогенными свойствами, что позволяет им уже на ранних стадиях заболевания эффективно блокировать ключевые механизмы противовирусного иммунитета [Fares F. et al., 1998; Фильченков А.А., Стойка Р.С., 1999; Ray R.V. et al., 2000].

РНК-содержащие вирусы семейства *Flaviviridae*, к числу которых относятся вирусы КЭ и HCV, наделены способностью к формированию и поддержанию персистенции в организме хозяина и трансформации острого инфекционного процесса в хроническую форму [Маянский А.Н. и соавт., 1998; Гавришева Н.А., Антонова Т.В., 1999; Антонов П.В., Цинзерлинг В.А., 2001; Аммосов А.Д., 2002; Жукова О.Б. и соавт., 2003].

При хронических вирусных инфекциях развиваются иммунодефицитные состояния, обусловленные дисрегуляцией различных звеньев иммунного ответа. Между тем лимфотропность вирусов имеет важное значение, поскольку персистенция вирусов в иммунокомпетентных клетках может влиять на их функциональную активность. В связи с этим, настоящее исследование было сосредоточено на установлении общих закономерностей и особенностей структурных и функциональных свойств лимфоцитов периферической крови у больных с длительной персистенцией вирусов HCV и КЭ.

Проведенное нами иммунофенотипирование лимфоцитов у больных ХВГ С различной степени активности, длительности патологического процесса и в зависимости от генотипа HCV, а также у пациентов с хроническим носительством вируса КЭ независимо от клинических проявлений нейроинфекции и длительности носительства вируса (до 1 года, от 1 до 3 лет,

более 3 лет) позволило выявить снижение содержания CD3⁺-, CD4⁺-лимфоцитов и соотношения CD4⁺/CD8⁺ (рис. 2). Подобные результаты были получены и другими авторами [Маммаев С.Н., 2002; Ратникова Л.И. и соавт., 2002; Фридлянд И.Ф. и соавт., 2002].

По мнению ряда авторов, активность Т-клеточного звена иммунитета при гепатите С и КЭ играет важную роль [Chang K.M. et al., 2001; Аммосов А.Д., 2002; Маммаев С.Н. и соавт., 2002]. Достоверно низкая экспрессия CD3⁺- и CD4⁺-молекул у обследованных нами больных может свидетельствовать, на наш взгляд, о том, что при хронической HCV- и нейроинфекции Т-клеточный ответ на антигены РНК-содержащих вирусов является довольно слабым.

CD4⁺-лимфоциты выполняют регуляторную роль в индукции специфического иммунного ответа. Они дифференцируются на две субпопуляции: Th1-лимфоциты, активирующие специфический клеточный иммунитет, и Th2-лимфоциты, активирующие специфический гуморальный иммунный ответ. При хронизации вирусных инфекций важное значение имеет нарушение баланса продукции цитокинов Th1/Th2 клетками [Павлова Л.Е. и соавт, 2000; Собчак Д.М., Монакова Э.А., 2004]. По данным С. Ferrari et al. [1998], у лиц, спонтанно излечившихся от острого гепатита, доминирует цитокинсекреторная активность Th1. Этими же авторами была продемонстрирована взаимосвязь между слабым Т-клеточным ответом на антигены HCV и превалирующей продукцией цитокинов Th2 с персистенцией вируса и развитием хронического течения заболевания. При ХВГ С активация гуморального иммунитета, регулируемая Th2 путем продукции IL-4 и IL-10, не обеспечивает, вероятно, эффективной противовирусной защиты организма [Мезенцев М.В. и соавт., 2002; Приймаги Л.С. и соавт., 2002; Корочкина О.В. и соавт., 2003]. Белковые продукты HCV могут блокировать внутриклеточную передачу сигналов от рецепторов IFN и снижать секрецию IL-2 и IFN γ активированными Т-лимфоцитами. Это также вызывает смещение баланса в пользу Th2, что является частью стратегии выживания вируса [Large M.K. et al., 1999; Taylor D.R. et al., 1999].

Существенное прогностическое значение при вирусных инфекциях имеет отношение CD4⁺-Th/индукторов и CD8⁺-Т-супрессоров/киллеров (иммунорегуляторный индекс), который в норме превышает единицу, а у больных ХВГ С и пациентов с хронической антигемией вируса КЭ, по результатам наших исследований, был снижен (рис. 2). Сходные результаты были получены и другими авторами [Маммаев С.Н., 2002; Масалова О.В. и соавт., 2003].

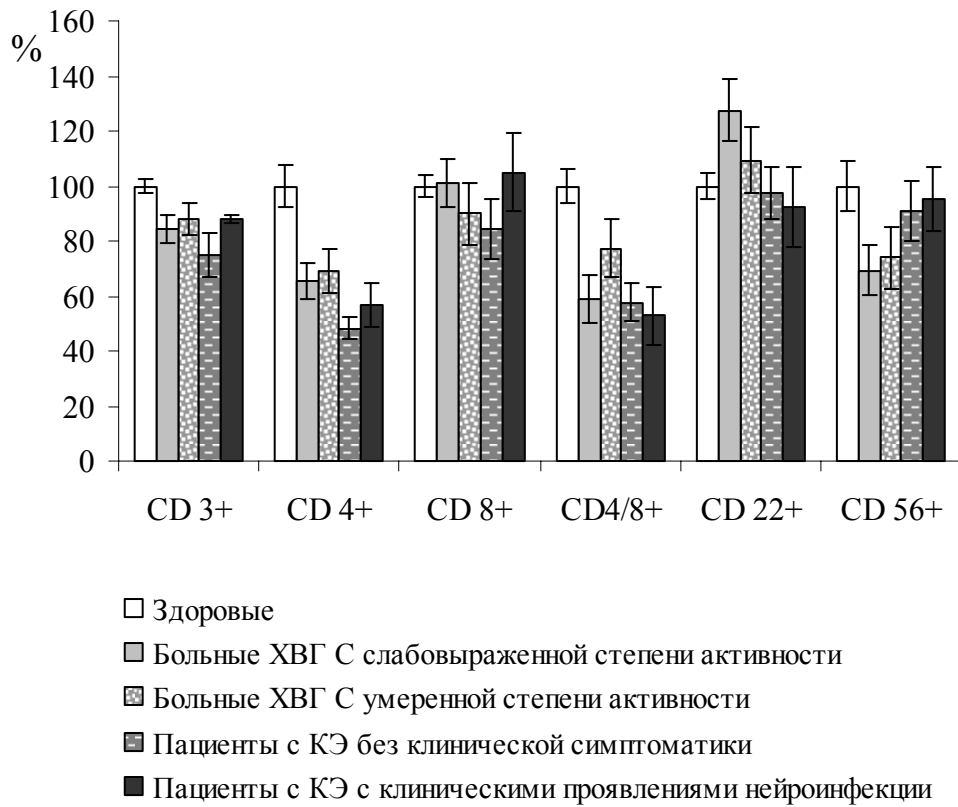


Рис. 2. Субпопуляционный состав лимфоцитов (%) периферической крови у больных хроническим вирусным гепатитом С и у пациентов с хронической антигенемией вируса клещевого энцефалита

У больных с ХВГ С независимо от степени активности, длительности течения патологического процесса и генотипа HCV, снижалось содержание клеток, несущих CD56⁺-антигены дифференцировки (рис. 2). NK-клетки играют важную роль в противовирусном иммунитете. Они, не имея клональной специфичности к отдельным антигенам, подобно моноцитам и гранулоцитам, различают чужеродные клетки по экспрессированным концевым остаткам маннозы гликопротеинов и гликолипидов и вызывают их гибель и лизис. NK-клетки, несущие на поверхности рецепторы к Fc-фрагменту IgG1 и IgG3, а также к C3-компоненту комплемента, способны специфически распознавать клетки, опсонизированные антителами (в этом случае NK-клетки называют К-клетками) [Фрейдлин И.С., 1997; Лебедев К.А., Понякина И.Д., 2003].

Сниженная экспрессия CD56⁺-молекул на лимфоцитах у больных ХВГ С может свидетельствовать о слабой противовирусной резистентности макроорганизма, обусловленной NK-клетками. При хронической HCV-инфекции, вероятно, страдают механизмы активации NK-клеток. N. Kawarabayashi et al. [2000] продемонстрировали отчетливо выраженную зависимость между прогрессирующим течением ХВГ С и снижением

численности и активности НК. Возможное объяснение этому, вероятно, заключается в избирательном и многоступенчатом блокировании вирусом системы передачи внутриклеточных сигналов IFN, которые являются ростовыми и дифференцировочными факторами для данной клеточной популяции.

У больных гепатитом С слабовыраженной степени активности и с длительностью течения инфекционного процесса от 5 до 10 и более 10 лет было повышено количество CD22⁺-лимфоцитов, что указывало на активное участие В-клеток в противовирусном иммунном ответе (рис. 2). Вместе с тем их протективная эффективность в условиях персистенции HCV-инфекции ограничена. Причиной ускользания вируса от нейтрализации антителами, несмотря на повышенную экспрессию CD22⁺, может явиться, по всей видимости, высокая мутационная изменчивость вирусного генома, при которой антитела не способны блокировать вирусную инвазию. Уникальной способностью вируса к генетической изменчивости, в результате которой иммунокомпетентные клетки не в состоянии распознать непрерывно обновляющиеся антигены, обусловлен столь высокий процент хронизации HCV-инфекции [Boot J.C.L. et al., 2001; Приймаги Л.С. и соавт., 2002; Pavio N., Lai M.M., 2003; Лисукова Т.Е. и соавт., 2004; Mateescu R.V. et al., 2004; Карпов С.Ю., Крель П.Е., 2005].

По данным В.Т. Ивашкина и соавт. [2001], при острой HCV-инфекции мощный противовирусный иммунитет Т-лимфоцитов способствует элиминации вируса, в то время как при хроническом гепатите специфический ответ Т-лимфоцитов слабый или отсутствует. На ранних этапах инфекции решающую роль играет подавление инициации иммунного ответа. Так, HCV способен влиять на процесс активации CD4⁺-Th, нарушая взаимодействие антигенпредставляющих клеток и Т-лимфоцитов [Игнатова Т.М., Серов В.В., 2001]. В условиях хронизировавшейся HCV-инфекции приобретают значение механизмы подавления реализации иммунного ответа, среди которых наибольшую роль отводят избеганию вирусов действия как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета.

Таким образом, длительное пребывание РНК-содержащих вирусов в макроорганизме модулирует иммунный ответ хозяина, что приводит к развитию вторичного иммунодефицита, проявляющегося дисбалансом иммунологических функций. Угнетение клеточного иммунного ответа можно рассматривать как конкретный механизм, опосредующий развитие патологического процесса, его хронизацию и прогрессирование.

У пациентов с хроническими вирусными инфекциями, вызванными рибовирусами, была обнаружена усиленная пролиферативная активность лимфоцитов периферической крови при их ФГА-стимуляции *in vitro*. Так, количество бластных форм клеток у больных ХВГ С составило $86,70 \pm 1,57\%$, у пациентов с хронической антигемией вируса КЭ - $78,08 \pm 1,68\%$, что достоверно превышало ($p < 0,01$) аналогичный показатель у здоровых лиц ($71,46 \pm 1,05\%$). Содержание неизмененных и переходных форм лимфоцитов было снижено у больных с хроническими инфекциями, вызванными РНК-содержащими вирусами. Известно, что уровень пролиферации лимфоцитов при ФГА-стимуляции в определенной степени отражает активность иммунного ответа организма на действие вируса, т.е. эффективность иммунной защиты [Дергунова Н.Н. и соавт., 2003]. Чувствительность же лимфоцитов к вирусам коррелирует с их митотическим циклом. Установлено, что до активации вирусным антигеном лимфоцитарные клетки находятся в G_0 -фазе клеточного цикла и в таком состоянии непермиссивны для большинства вирусов. Их репликация возможна лишь в активированных, пролиферирующих клетках. Индуцированная вирусами пролиферация также содействует увеличению в организме числа клеточных элементов, способных реагировать с чужеродными агентами [Уразова О.И. и соавт., 2003]. С этой позиции повышенную способность лимфоцитов к бласттрансформации в ответ на действие РНК-вирусов, по всей видимости, можно рассматривать как компенсаторную реакцию иммунной системы, направленную на защиту организма от инфекции.

Оценка поверхностной архитектоники лимфоцитов периферической крови у больных ХВГ С слабовыраженной и умеренной степеней активности, а также у пациентов с хронической антигемией вируса КЭ показала статистически значимое увеличение числа лимфоцитов со складчатым микрорельефом (в 6 и 4,1 раз соответственно), с пузырями (в 6 и 9,6 раз соответственно) и выростами на поверхности (в 1,4 и 1,9 раза соответственно), при одновременном снижении содержания относительно гладких форм клеток (в 2 раза и 4,3 раза соответственно) по сравнению с аналогичными показателями у здоровых доноров. Кроме того, при электронномикроскопическом исследовании у больных гепатитом С и КЭ были визуализированы клетки с комбинированной поверхностью, не встречающиеся у здоровых лиц (рис. 1).

А. Polliack et al. [1973] было высказано предположение, что В- и Т-лимфоциты различаются по типу поверхностного микрорельефа, в частности, ворсинчатой поверхностью отличаются В-лимфоциты, клетками с гладким

микрорельефом являются Т-лимфоциты. Однако, существует иное мнение исследователей, считающих, что у некоторых Т-лимфоцитов на поверхности имеются ворсинки, а В-лимфоциты имеют гладкую поверхность [Linthicum D.S., 1974; Козинец Г.И. и соавт., 1979, 2002]. В литературе имеются сведения о том, что гладкую поверхность имеют функционально инертные Т- и В-лимфоциты, при активации же клетки образуют множественные выросты [Робинсон М.В. и соавт., 1986]. Вместе с тем известно, что топография поверхности лимфоцитов определяется также фазой клеточного цикла и зависит от степени дифференцировки клеток [Polliak A. et al., 1973; Авцын А.П., Шахламов В.А., 1979; Робинсон М.В. и соавт., 1986; Елисеев В.Г. и соавт., 2004].

В последние годы получены убедительные данные, указывающие на изменения поверхностного микрорельефа лимфоцитов при хронических вирусных инфекциях [Новицкий В.В. и соавт., 2003; Уразова О.И. и соавт., 2003, 2004; Наследникова И.О. и соавт., 2004, 2005]. В своих работах авторы отчетливо продемонстрировали увеличение числа лимфоцитов со складками, пузырями и выростами на поверхности лимфоцитарных клеток. Возможно, причиной этого является активация лимфоцитов, и, как следствие, появление на поверхности клеток разнообразных выростов. Образование сфероидных структур на поверхности лимфоцитов представляет собой одну из ранних реакций клеток на воздействие внешних агентов, в том числе вирусов [Авцын А.П., Шахламов В.А., 1979].

Одним из ключевых механизмов поддержания вирусной персистенции является модуляция программированной клеточной смерти. Показано, что при вирусных инфекциях сосуществуют факторы, индуцирующие и ингибирующие апоптоз клеток [Dbaiho G., Hannun J., 1998; Ehrmann J.Jr. et al., 2000; Nay S., Kannourakis G., 2002]. Вирусам целесообразно подавить апоптоз вирусинфицированных клеток, так как они могут размножаться лишь в живых клетках. Исход инфекционного процесса связывают с результатом противостояния антиапоптотической способности вирусов и активации физиологической гибели инфицированных клеток как части защитного механизма организма.

Проведенное нами исследование показало, что у больных с хроническими вирусными инфекциями, вызванными РНК-содержащими вирусами гепатита С и КЭ, число лимфоцитов, экспрессирующих CD95+-рецептор, достоверно превышало контрольный показатель (рис. 3). Увеличение количества CD95+-

лимфоцитов у обследованных нами пациентов следует рассматривать, по всей видимости, как адекватную реакцию организма на элиминацию инфектогена.

Основной функцией Fas-рецептора является индукция апоптоза. Вместе с тем CD95 может играть определенную роль и в стимуляции клеточной пролиферации. Полученные нами данные показали, что увеличение содержания лимфоцитов, несущих Fas-молекулы, положительно коррелировало с увеличением числа бластных клеток ($r=0,67$; $p<0,05$) как у пациентов с ХВГ С слабовыраженной степени активности, так и при ХВГ С умеренной степени активности ($r=0,78$; $p<0,01$). У пациентов с хронической антигенемией вируса КЭ без клинической проявлений нейроинфекции была выявлена следующая взаимосвязь: увеличение числа CD95+-клеток положительно коррелировало с содержанием бластных форм ($r=0,86$; $p<0,001$) и отрицательно - с количеством неизмененных клеток ($r=-0,67$; $p<0,05$).

При исследовании реализации программируемой клеточной гибели в аннексиновом тесте у больных ХВГ С слабовыраженной и умеренной степеней активности патологического процесса нами было выявлено снижение содержания как не стимулированных, так и стимулированных ФГА апоптотических клеток, что было связано, вероятно, с нарушением реализации программированной клеточной гибели (рис. 3). Несмотря на высокую готовность лимфоцитов к апоптозу, подтверждение чему мы получили путем оценки экспрессии CD95+-молекул, при ХВГ С, по всей видимости, возникала блокада программированной клеточной гибели. Это может быть объяснено рядом причин. По данным M. Otsuka et al. [2002] и J. Kountoras et al. [2003], HCV может подавлять функцию белка p53, инактивировать каспазы, усиливать экспрессию апоптоза Bcl-X_L, сохраняя тем самым клетке жизнеспособность. Чувствительность к Fas-индуцированному апоптозу может снижаться из-за нарушенной функции самого рецептора или дисбаланса между уровнями экспрессии мембранной и растворимой форм Fas-рецептора и FasL [Олейник Е.К. и соавт., 2004]. Кроме того, HCV может индуцировать синтез мутантных форм Fas/FasL. Так, показано достоверное увеличение содержания как растворимой формы Fas-рецептора, так и растворимого FasL в сыворотке крови больных острыми вирусными гепатитами [Митрикова Л.Ц. и соавт., 2003]. Растворимые формы Fas и FasL проявляют апоптоз-супрессивную активность. С одной стороны, это может быть связано с образованием прочных связей Fas-FasL, с другой стороны – мутантный продукт может конкурировать с полноценным лигандом за связывание с рецептором [Tanaka M. et al., 1998].

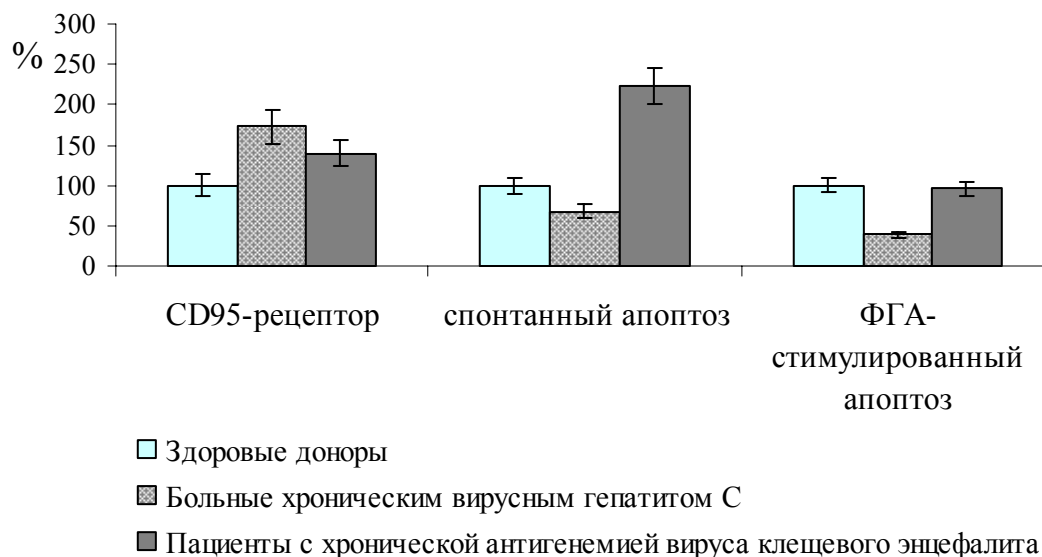


Рис. 3. Экспрессия Fas-рецептора и фосфатидилсерина на поверхности лимфоцитов (%) периферической крови у больных хроническим вирусным гепатитом С и у пациентов с хронической антигемией вируса клещевого энцефалита

Однако в литературе имеются данные, свидетельствующие о существенно более высоком количестве апоптотических лимфоцитов и нейтрофилов периферической крови у больных хроническими вирусными гепатитами В и С [Буеверов А.О. и соавт., 2000]. Рядом авторов показано прямое апоптозиндуцирующее действие вируса гепатита С на гепатоциты. Центральную роль в индукции апоптоза этим вирусом играет его взаимодействие с рецепторными и сигналпередающими системами клетки [Kalkeri G. et al., 2001].

При оценке апоптотической гибели лимфоцитов у пациентов с хронической антигемией вируса КЭ отмечалась активация спонтанного апоптоза, что является адекватной реакцией организма, направленной на элиминацию инфектогена. Однако при стимуляции ФГА лимфоцитарных клеток, относительное содержание апоптотических клеток снижалось на 46% по сравнению с числом апоптотических клеток в спонтанном тесте, достигнув соответствующих значений у здоровых доноров (рис. 3). К настоящему времени накоплены единичные сведения о характере модуляции программированной клеточной гибели клеток при КЭ. Так, Н.И. Камалов и соавт. [1998] на экспериментальной модели КЭ показали, что апоптоз имел активирующий характер и развивался вследствие дисбаланса иницирующих сигналов. М.П. Исаевой и соавт. [1998] было показано, что вирус КЭ способен инициировать программированную гибель клеток как *in vivo*, так и *in vitro*, что является одним из механизмов цитопатического действия вируса.

Вероятно, возбудители КЭ и гепатита С, несмотря на принадлежность к одному семейству, сходные молекулярные характеристики, лимфотропность, используют разные механизмы ускользания от иммунного ответа. Так, HCV активно блокирует Fas-опосредованный апоптоз, что способствует поддержанию длительной вирусной персистенции [Митрикова Л.Ц. и соавт., 2003; Жукова О.Б. и соавт., 2005]. Вирус КЭ, напротив, индуцирует программируемую клеточную гибель, не приводящую, однако, к эффективной элиминации инфектогена.

Вирусы обладают разнообразными приспособительными молекулярными свойствами, позволяющими воздействовать на ключевые этапы апоптоза, модулируя их в соответствии с собственной стратегией выживания. Вмешательство вирусов в процесс программируемой клеточной гибели является весьма важным для понимания молекулярных механизмов персистенции РНК-содержащих вирусов. Затрагивая данный аспект, нам удалось лишь частично оценить ряд вопросов, связанных с пониманием патогенеза вирусоносительства.

Таким образом, ключевую роль в механизмах развития длительной персистенции РНК-содержащих вирусов играет нарушение функционирования клеточного звена иммунитета. Усиление пролиферативной активности лимфоцитов у пациентов с длительной персистенцией РНК-содержащих вирусов следует рассматривать, вероятно, как компенсаторную реакцию иммунной системы, направленную на защиту организма от инфекции.

По всей видимости, стратегия выживания вируса гепатита С направлена на активное блокирование программируемой смерти инфицированных клеток, что способствует поддержанию хронической персистенции возбудителя. С другой стороны, при интенсивной активации программируемой клеточной гибели при хронической антигенемии КЭ не происходит эффективной элиминации инфектогена. Это связано с тем, что вирусы семейства Flaviviridae используют разные механизмы ускользания от иммунного ответа макроорганизма, несмотря на их патогномичную идентичность.

ВЫВОДЫ:

1. Развитие хронических инфекций, вызванных РНК-содержащими вирусами гепатита С и клещевого энцефалита, сопровождается нарушением иммунного ответа, модуляцией структурных и функциональных свойств лимфоцитов и апоптоза лимфоцитарных клеток.

2. У больных хроническим вирусным гепатитом С слабовыраженной и умеренной степени активности, у пациентов с хронической антигенемией вируса клещевого энцефалита развиваются однонаправленные изменения субпопуляционного состава лимфоцитов (снижение относительного количества CD3⁺-, CD4⁺- и CD56⁺-лимфоцитов, иммунорегуляторного индекса (CD4⁺/CD8⁺)), сочетающиеся с усилением их пролиферативной активности.

3. Дезорганизация поверхностной архитектоники лимфоцитов при хронических инфекциях, вызванных РНК-содержащими вирусами гепатита С и клещевого энцефалита, проявляется снижением числа гладких клеток и повышением количества лимфоцитов со складками, пузырьвидными образованиями и выростами на поверхности, появлением в периферической крови клеток с комбинированной поверхностью.

4. Изменения иммунофенотипа, поверхностного микрорельефа и способности лимфоцитов к пролиферации при хронических инфекциях, вызванных РНК-содержащими вирусами гепатита С и клещевого энцефалита, не зависят от клинических проявлений и длительности течения инфекционного процесса.

5. Повышение экспрессии лимфоцитами CD95⁺-молекул при персистенции вирусов клещевого энцефалита и гепатита С свидетельствует об усилении апоптотического потенциала лимфоцитарных клеток. Несмотря на апоптотическую предуготовленность лимфоцитов, число их апоптотических форм при хроническом вирусном гепатите С снижается; при клещевом энцефалите содержание лимфоцитарных клеток, подвергшихся спонтанному апоптозу, повышается.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Хронический гепатит В: структура, метаболизм и цитогенетические особенности / Экспериментальна і клінічна медицина. – 2003. - № 2. – С. 64-67 (в соавт. с Новицким В.В., Рязанцевой Н.В., Наследниковой И.О., Токаревой Н.В., Жуковой О.Б., Белоконь В.В., Миноченко Ю.В., Томсон Ю.В., Комаровой Т.С., Чечиной О.Е., Чернецкой Н.Н.).

2. Структурно-функциональные особенности плазматической мембраны лимфоцитов и эритроцитов при вирусных инфекциях / Сибирский медицинский журнал. – 2003. – Т. 18, № 3. – С. 34-38 (в соавт. с Рязанцевой Н.В., Паниным Л.Е., Токаревой Н.В., Новицким В.В., Наследниковой И.О., Жуковой О.Б., Белоконь В.В.).

3. Флюоресцентное зондирование плазматической мембраны лимфоцитов и эритроцитов при персистенции вируса клещевого энцефалита: мониторинг структурных изменений / Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. - Т. 136, № 8. – С. 213-216 (в соавт. с Паниным Л.Е., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Токаревой Н.В., Лепехиным А.В., Жуковой О.Б., Михеевым С.Л., Емельяновой Н.С.).

4. «Гематологические маски» хронического вирусного гепатита / Терапевтический архив. – 2003. - № 11. – С. 28-31 (в соавт. с Рязанцевой Н.В., Белобородовой Э.И., Новицким В.В., Токаревой Н.В., Ткаченко С.Б., Белобородовой Е.В., Бурковской В.А., Кнутаревой Е.Н.).

5. Поверхностная архитектура, функциональные особенности и метаболизм лимфоцитов периферической крови при хронической герпесвирусной инфекции / Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. - № 5. – С. 53-55 (в соавт. с Наследниковой И.О., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Ткаченко С.Б., Белоконь В.В., Черновым А.С., Решетниковым В.И., Шевцовой Н.М., Миллер А.А.).

6. Молекулярные механизмы изменения продукции ФНО- α мононуклеарами крови при хроническом вирусном гепатите С / Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. - № 2. – С. 191-195 (в соавт. с Рязанцевой Н.В., Наследниковой И.О., Зима А.П., Новицким В.В., Токаревой Н.В., Белобородовой Е.В., Белоконь В.В., Миноченко Ю.В., Томсон Ю.В., Пигузовой Е.А.).

7. Типовые изменения поверхностной архитектуры лимфоцитов при хронической вирусной инфекции / Цитология. - 2005. - Т. 47, № 2. - С. 136-140 (в соавт. с Наследниковой И.О., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В.).

8. Феномен хронической антигенемии вируса клещевого энцефалита: возможные пути патогенеза / Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 139, № 4 - С. 446-450 (в соавт. с Наследниковой И.О., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Лепехиным А.В., Белоконь В.В., Томсон Ю.В.).

9. Плазматическая мембрана лимфоцитов как структурно-функциональное звено иммунной системы при развитии вирусной инфекции / Тезисы докладов Межрегиональной научной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения академика АМН СССР С.П. Карпова, Томск, 7-10 окт. 2003 г. – Томск, 2003. – С. 103 (в соавт. с Токаревой Н.В., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Жуковой О.Б., Белоконь В.В.).

10. Структурные особенности плазматической мембраны лимфоцитов при хроническом гепатите С / Успехи современного естествознания. – 2003. - № 10. – С. 100-101 (в соавт. с Токаревой Н.В., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Наследниковой И.О., Жуковой О.Б., Антошиной М.А., Белоконь В.В., Чернецкой Н.Н.).

11. Изменения микровязкости плазматической мембраны лимфоцитов при хроническом гепатите В / Успехи современного естествознания. – 2003. - № 11. – С. 89 (в соавт. с Токаревой Н.В., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Жуковой О.Б., Наследниковой И.О., Миноченко Ю.В., Чечина О.Е.).

12. Хронический вирусный гепатит С: структурно-метаболический и цитогенетический статус лимфоцитов / Материалы VI Российского съезда врачей-инфекционистов, Санкт-Петербург, 29-31 окт. 2003 г. – СПб., 2003. – С. 268-269 (в соавт. с Наследниковой И.О., Рязанцевой Н.В., Токаревой Н.В., Жуковой О.Б., Белоконь В.В., Миноченко Ю.В., Чечиной О.Е.).

13. Хронические вирусные гепатиты – актуальная проблема медико-социального значения / Сборник научных работ «Актуальные проблемы биологии, медицины и экологии». – Томск, 2004. – Т. 3, № 2. – С. 347 (в соавт. с Мельниковой А.П., Жуковой О.Б., Наследниковой И.О., Миноченко Ю.В., Насыровой Р.Ф., Чечиной О.Е., Белоконь В.В.).

14. Апоптоз лимфоцитов крови у пациентов с хронической персистенцией вирусов / Материалы Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии», Санкт-Петербург, 15-16 апр. 2004 г. – СПб., 2004. – С. 27-29 (в соавт. с Жуковой О.Б., Чечиной О.Е., Литвак М.М., Михеевым С.Л., Наследниковой И.О., Ермолаевой Е.С., Хлаповым А.П., Пигузовой Е.А.).

15. Функционально-метаболический статус лимфоцитов периферической крови у больных с длительной персистенцией вирусов / Материалы Межгородской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы патофизиологии», Санкт-Петербург, 15-16 апр. 2004 г. – СПб., 2004. – С. 48-50 (в соавт. с Наследниковой И.О., Белоконь В.В., Токаревой Н.В., Томсон Ю.В., Миноченко Ю.В., Жуковой О.Б., Мельниковой А.П.).

16. Хроническая герпесвирусная инфекция: иммунофенотипические особенности лимфоцитов / Сборник научных работ «Современные достижения фундаментальных наук в решении актуальных проблем медицины», Астрахань, 17-18 мая 2004 г. – Астрахань, 2004. – С. 49-50 (в соавт. с Наследниковой И.О., Белоконь В.В., Рязанцевой Н.В., Черновым А.С., Решетниковым В.И., Томсон Ю.В., Миноченко Ю.В., Шперлинг И.А.).

17. Иммунорегуляторные Th1- и Th2-цитокينات при хронической инфекции, вызванной вирусами гепатитов В и С / Материалы V Международного конгресса молодых ученых и специалистов «Науки о человеке», Томск, 20-21 мая 2004 г. – Томск, 2004. – С. 86-87 (в соавт. с Наследниковой И.О., Белобородовой Е.В., Белоконь В.В., Томсон Ю.В., Зверевой Е.С., Токаревой Н.В., Жуковой О.Б., Мельниковой А.П.).

18. Поверхностная архитектура и иммунофенотипические особенности лимфоцитов при хронической антигенемии вируса клещевого энцефалита / Материалы II Всероссийской научно-практической конференции «Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные, экологические и клинические аспекты», Новосибирск, 5-7 октября 2004 г. - Новосибирск, 2004. - С. 3-4 (в соавт. с Наследниковой И.О., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Белоконь В.В., Томсон Ю.В., Зверевой Е.С.).

19. Продукция цитокинов при хронической персистенции вируса клещевого энцефалита / Материалы II Всероссийской научно-практической конференции «Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные, экологические и клинические аспекты», Новосибирск, 5-7 октября 2004 г. - Новосибирск, 2004. - С. 10-11 (в соавт. с Белоконь В.В., Наследниковой И.О., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Миноченко Ю.В., Томсон Ю.В., Зверевой Е.С.).

20. Закономерности изменений цитокинпродуцирующей способности лимфоцитов при хроническом вирусном гепатите / III Российский конгресс по патофизиологии с международным участием «Дизрегуляторная патология органов и систем (экспериментальная и клиническая патофизиология)», Москва, 9-12 ноября 2004 г. - Москва, 2004. - С. 722 (в соавт. с Наследниковой

И.О., Новицким В.В., Рязанцевой Н.В., Жуковой О.Б., Мельниковой А.П., Белобородовой Е.В., Белоконь В.В., Томсон Ю.В.).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АлАТ - аланинаминотрансфераза
АсАТ - аспартатаминотрансфераза
КЭ - клещевой энцефалит
ПЦР - полимеразная цепная реакция
РБТЛ - реакция бласттрансформации лимфоцитов
РНК - рибонуклеиновая кислота
ФГА - фитогемагглютинин
ФИТЦ - флуоресцеинизотиоцианат
ХВГ С - хронический вирусный гепатит С
CD - кластер дифференцировки
CTL - цитотоксический лимфоцит
НСV - вирус гепатита С
IFN - интерферон
Ig - иммуноглобулин
IL - интерлейкин
NK - натуральный киллер
NS - неструктурный белок
Th - Т-хелпер