

На правах рукописи

ЖУКОВА
Оксана Борисовна

**НАРУШЕНИЯ ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКОГО И
ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО СТАТУСА ЛИМФОЦИТОВ
ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ПРИ ПЕРСИСТЕНЦИИ
ВИРУСОВ КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА И
ГЕПАТИТОВ В, С**

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

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск-2003

Работа выполнена в Сибирском государственном медицинском университете
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, член-корреспондент РАМН,
профессор, Заслуженный деятель науки РФ

**Новицкий
Вячеслав Викторович**

доктор медицинских наук

**Рязанцева
Наталья Владимировна**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,
член-корреспондент РАМН, профессор

**Дыгай
Александр Михайлович**

доктор медицинских наук, профессор

**Логвинов
Сергей Валентинович**

Ведущая организация:

Новосибирская государственная медицинская академия Минздрава РФ

Защита состоится «___»_____2003 г. в ___ часов на заседании
диссертационного совета Д 208.096.01 при Сибирском государственном
медицинском университете МЗ РФ (634050, Томск, ул. Московский тракт, 2)

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

Автореферат разослан «___»_____2003 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

Бражникова Н.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Вирусные инфекции являются весьма важной медико-биологической проблемой. Их значимость во многом обусловлена возрастающей частотой хронизации инфекционного процесса и возможностью развития опасных осложнений, вызванных реализацией онкогенного потенциала вирусов [Погодина В.В. и соавт., 1986; Tremoloda F. et al., 1991; Okoth F.A., 1996; Sharara A.L. et al., 1996; Серов В.В., Мухин Н.А., 2000; Антонов П.В., Цинзерлинг В.А., 2001]. Несмотря на постоянно расширяющийся объем знаний о причинах развития хронических инфекций, многие вопросы, касающиеся механизмов возникновения и прогрессирования этой патологии, остаются открытыми. Недостаточно изучены факторы, позволяющие вирусам длительно сохраняться в организме, а также условия, влияющие на развитие хронических форм болезни. В связи с этим внимание исследователей все чаще обращается на взаимодействие вирусов и иммунной системы организма, являющейся одной из основных (наряду с нервной и эндокринной) систем, участвующих в формировании стратегии функционирования организма в новых условиях.

Представители большинства таксономических групп вирусов могут служить причиной развития патологических процессов, при которых их репликация обеспечивается жизнеспособностью клетки-хозяина [Oldstone M.B., 1989; Dillon A.P., Dusheiko G.M., 1995; Антонов П.В., Цинзерлинг В.А., 2001; Апросина З.Г., Серов В.В., 2001; Игнатова Т.М., Серов В.В., 2001; Arbutnot P., Kew M., 2001]. Однако внедрение вируса в клетку макроорганизма – это прежде всего «сигнал тревоги» [Matzinger P., 1994], который приводит в состояние готовности все механизмы иммунного ответа (врожденные и приобретенные), направленные на ограничение и элиминацию инфекции. Для обеспечения собственного выживания вирусы должны использовать пути, позволяющие им избежать действия защитных иммунных реакций организма.

Эволюционно вирусы, персистирующие в организме высших животных, приобрели огромное количество свойств, давших им возможность с успехом использовать для существования эту экологическую нишу [Букринская А.Г., Жданов В.М., 1991]. Кроме антигенной мимикрии к числу таких способностей можно отнести низкий уровень экспрессии вирусных антигенных детерминант [Johnson I. C. et al., 1995; Апросина З.Г., Серов В.В., 2001], «экранирование» структуры консервативных иммуногенных эпитопов [Chisari F.V., Ferrari C., 1995], высокую степень генетической изменчивости антигенов, доступных для распознавания иммунокомпетентными клетками [Feitelson M.A., 1994; Alter H.J., 1995; Dhillon A.P., Dusheiko G.M., 1995; Lewy J.A., 1997], интеграцию в геном клетки-хозяина [Neumann A.U. et al., 1998; Ивашкин В.Т. и соавт., 2000] и, наконец, возможность прямо или опосредованно влиять на иммунные реакции,

вызывая изменения противовирусного иммунного ответа [Foster G.R. et al., 1991; Watkins B.A. et al., 1996].

Возбудители клещевого энцефалита, гепатитов В и С относятся к числу вирусов, способных длительно присутствовать в организме и индуцировать развитие хронических заболеваний [Погодина В.В. и соавт., 1986; Злобин В.Н., Горин О.З., 1996; Sauder C., 1999]. Изучение механизмов, используемых вирусами клещевого энцефалита, гепатитов В и С для «ускользания» от иммунного контроля организма важно для разработки эффективных терапевтических мероприятий.

В проблеме персистирующих инфекций неразрешенным остаётся вопрос о причинах, приводящих при одном и том же возбудителе к разным исходам болезни: в одних случаях развивается циклическое течение с элиминацией инфектогена, в других – длительно сохраняется высокая репликативная активность вируса с формированием хронического воспалительного процесса [Нургалиев Д.Ж., Омарова К.О., 2002]. Такие особенности хронической инфекции обусловлены состоянием иммунной системы организма, от адекватности которой зависят течение и исход заболевания. При этом особый интерес к структурно-функциональному статусу лимфоцитарных клеток обусловлен не только тем фактом, что иммунная система, как очевидно, принимает непосредственное участие в реализации инфекционного процесса, но и тем, что иммунокомпетентные клетки сами являются мишенью для действия вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С [Погодина В.В. и соавт., 1986; Lerat H. et al., 1998; Апросина З.Г., Серов В.В., 2001].

В связи с этим возникает необходимость проведения комплексной и сравнительной оценки характера клеточной дифференцировки и цитогенетических особенностей лимфоцитов периферической крови в условиях длительной персистенции разных видов вирусов при различных степенях активности инфекционного процесса. Получение подобных обобщающих положений, вероятно, позволит получить новые данные фундаментального характера о роли иммунной системы в механизмах формирования хронических вирусных инфекций.

Цель и задачи исследования. Цель работы - определить роль нарушений иммунофенотипического профиля и цитогенетического статуса лимфоцитов в механизмах формирования персистенции вирусов клещевого энцефалита и гепатитов В, С.

Предпринятое исследование было сосредоточено на решении следующих основных задач:

1. Оценить субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови, их цитогенетический статус и апоптотический потенциал у больных с персистенцией вируса клещевого энцефалита.

2. Выявить особенности характера клеточной дифференцировки и состояния хромосомного аппарата лимфоцитов периферической крови у больных с хроническими формами гепатитов В, С и В+С.

3. Вскрыть общие закономерности и особенности нарушений иммунофенотипа, цитогенетических свойств и апоптоза лимфоцитов периферической крови при персистентном течении вирусных инфекций (клещевой энцефалит, гепатиты В, С и В+С).

Научная новизна. В настоящей работе впервые поднят вопрос о характере и степени изменений иммунокомпетентных клеток периферической крови при клинически выраженной и бессимптомной персистенции вирусов клещевого энцефалита и гепатитов В, С с позиции вскрытия патогенеза длительного вирусоносительства. Установлено, что формирование персистенции вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С сопровождается нарушениями иммунологической реактивности и цитогенетической нестабильностью лимфоцитов периферической крови. Степень выраженности указанных расстройств определяется видом возбудителя и активностью инфекционного процесса. Показано, что у пациентов с хроническим течением клещевого энцефалита, гепатита С минимальной и умеренной степеней активности, гепатита В умеренной степени активности, а также микст-инфекции (гепатит В+С) на фоне увеличения содержания CD56⁺-клеток развивается дисбаланс Т-звена системы иммунитета, проявляющийся повышением числа CD8-позитивных лимфоцитов. Получены новые данные, свидетельствующие о том, что при персистенции вирусов клещевого энцефалита и гепатитов В, С апоптотический потенциал лимфоцитарных клеток повышен. Проапоптотическая предуготовленность лимфоцитов периферической крови наиболее выражена у бессимптомных носителей вируса клещевого энцефалита и у пациентов с хроническим гепатитом С минимальной степени активности. Показано, что персистентное течение вирусных инфекций (клинически выраженная и бессимптомная персистенция вируса клещевого энцефалита, хронические гепатиты В, С и В+С умеренной степени активности) сопровождается структурными хромосомными абберациями лимфоцитарных клеток, носящими неспецифический характер. Установлено, что при персистенции вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В, С отмечается снижение активности системы эксцизионной репарации ДНК лимфоцитарных клеток крови. Обосновано, что ингибирование репаративного синтеза ДНК наиболее выражено у больных с хроническим гепатитом С умеренной степени активности.

Практическая значимость. Полученные данные фундаментального характера раскрывают новые иммунологические аспекты хронизации инфекционного процесса при клещевом энцефалите, гепатитах В и С. Показана значимая роль состояния лимфоцитарных клеток крови в механизмах формирования персистенции вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С.

Результаты исследования могут быть положены в основу разработки новых подходов к прогнозированию клинического течения инфекционного процесса при клещевом энцефалите, гепатитах В и С, а также патогенетически оправданных способов предупреждения и коррекции нарушений со стороны клеточного звена системы иммунитета в условиях хронизации вирусных инфекций.

Апробация и реализация работы. Результаты проведенных исследований докладывались и обсуждались на 5-ом Конгрессе «Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии» (Москва, 2002), Международном симпозиуме «Успехи современного естествознания» (г. Сочи, 2002), Всероссийской научной конференции «Нервно-психическое утомление человека в современных условиях» (г. Черкесск, 2002), Юбилейной конференции, посвященной 40-летию ЦНИЛ Сибирского государственного медицинского университета (Томск, 2002), Пироговской научной конференции (Москва, 2003), а также на научных семинарах кафедр микробиологии, патофизиологии и фундаментальных основ клинической медицины СибГМУ МЗ РФ (Томск, 2001-2003). Основные положения и выводы диссертационной работы используются в лекциях по патологической физиологии (разделы «Патофизиология инфекционного процесса», «Патофизиология иммунной системы») и микробиологии (разделы «Рабдо- и арбовирусы», «Возбудители гепатитов») для студентов 2-3 курсов лечебного и педиатрического факультетов, а также в лекционном курсе по инфекционным болезням для студентов 5 курса лечебного и педиатрического факультетов СибГМУ МЗ РФ.

Публикации. Результаты исследований отражены в 7 публикациях (в том числе в одной статье, размещенной в центральном рецензируемом журнале)

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов и списка используемой литературы. Работа иллюстрирована 9 рисунками и 8 таблицами. Библиографический указатель включает 274 источника, из них 147 отечественных и 127 иностранных.

ХАРАКТЕРИСТИКА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В основу настоящей работы положены результаты комплексного клинико-лабораторного обследования 117 пациентов (71 мужчина и 46 женщин в возрасте от 18 до 55 лет, средний возраст – 32 ± 3 лет) с вирусной персистенцией, проводившегося на базе инфекционных отделений клиник Сибирского государственного медицинского университета, медико-санитарной части «Строитель» и городской больницы №3 г. Томска. Контрольную группу составили 36 здоровых доноров с аналогичными характеристиками по полу и возрасту.

В зависимости от этиологического фактора и ведущей органной патологии наблюдавшиеся пациенты были разделены на две группы. Первую группу

составили 53 пациента с персистенцией вируса клещевого энцефалита, ко второй – были отнесены 64 больных хроническими гепатитами В и С. 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 прием гепатотоксических лекарств.

Диагноз клещевого энцефалита верифицировался на основании данных эпидемиологического анамнеза, оценки неврологического статуса, определения уровня специфических антител к антигену вируса клещевого энцефалита методами непрямой реакции гемагглютинации и иммуноферментного анализа, обнаружения вирусной РНК методом полимеразно-цепной реакции (ПЦР), а также результатов инструментального исследования.

В зависимости от особенностей клинических и лабораторных проявлений клещевой нейроинфекции была выделена группа из 15 больных хроническим клещевым энцефалитом (полиомиелитическая форма, непрогредиентное течение, стадия ремиссии). Основными проявлениями патологии были стойкий астено-вегетативный синдром, упорные головные боли, бессонница, снижение памяти в течение 12-24 мес после перенесенного острого клещевого энцефалита, преимущественно лихорадочной формы. Вторую группу составили 25 пациентов с субклинической формой клещевого энцефалита (хроническое, бессимптомное течение). У лиц, отнесенных к данной клинической категории, при отсутствии клинических симптомов в крови обнаруживалась вирусная РНК. Группу сравнения представляли 13 больных со стертой формой острого клещевого энцефалита. Особенности клинической картины у пациентов этой группы являлись общеинфекционные симптомы (головные боли, миалгии, общая слабость, снижение трудоспособности) при отсутствии гипертермии. Доминирующими были нарушения со стороны вегетативной нервной системы в виде дистального гипергидроза, стойкого красного дермографизма, повышенной потливости, лабильности артериального давления.

Диагноз хронического вирусного гепатита устанавливался в соответствии с классификацией, принятой Всемирным конгрессом гастроэнтерологов в Лос-Анжелесе (1994), и основывался на наличии клинико-инструментальных симптомов (гепато-, спленомегалии) и клинико-лабораторных синдромов (холестаза, цитолиза, мезенхимально-воспалительного синдрома). Этиологическая верификация диагноза проводилась выявлением в крови ДНК вируса гепатита В (HBV), РНК вируса гепатита С (HCV) (метод ПЦР), серологических маркеров HBV (Hbe-антиген, HBs-антиген, анти-Hbcor IgM, анти- Hbcor суммарные) и HCV (анти-HCV Ig к cor, С-протеину, неструктурным белкам NS-3, NS-4, NS-5, анти-HCV IgM). Диагноз у 38 пациентов подтверждался путем проведения сцинтиграфического исследования печени.

Среди пациентов с персистенцией вирусов гепатита В и С у 13 больных определялся хронический гепатит В умеренной степени активности, у 12 – хронический гепатит С умеренной степени активности, у 14 – хронический гепатит В+С умеренной степени активности; 15 больным был поставлен диагноз – хронический гепатит В минимальной степени активности, 10 – хронический гепатит С минимальной степени активности.

Материалом исследования являлась венозная кровь обследованных лиц, взятая утром до приёма пищи. Кровь стабилизировали гепарином (25 Ед/мл).

Определение количества лимфоцитов периферической крови проводили стандартными гематологическими методами [Козинец Г.И., Макаров В.А., 1997].

Лимфоциты выделяли по методу Дж. Натвиг и соавт. [1980].

Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови по CD-маркёрам (CD3, CD4, CD8, CD22, CD,56) проводили иммуноцитохимическим методом [Тотолян А.Н. и соавт., 2002]. Результаты выражали в процентных и абсолютных значениях.

Содержание лимфоцитов, несущих маркер проапоптотической подготовленности CD95⁺-рецептор, оценивали непрямым иммунофлюоресцентным методом [Тотолян А.Н. и соавт., 2001]. Результат оценивали как количество (%) светящихся клеток из 200 лимфоцитов, видимых в фазовом контрасте.

Приготовление препаратов для хромосомного анализа лимфоцитов проводили по методу P.S. Moorhead et al. [1960]. Для оценки цитогенетического эффекта определяли общее количество aberrаций и весь их качественный спектр в соответствии с критериями мутагенного воздействия [Бочков Н.П. и соавт., 1972; Carrano A. V., Natarajan A. T., 1988]. Полученные результаты выражали в процентах.

Активность эксцизионной системы репарации ДНК лимфоцитарных клеток исследовали методом сцинтилляционной радиометрии [Дубинин Н.П., Засухина Г. Ф., 1975]. Измерение радиоактивности (имп/с) проводили на сцинтилляционном счетчике «Mark III» (США). Рассчитывали индекс стимуляции системы ДНК-репарации. Результаты выражали в условных единицах (усл. ед.).

Полученные в ходе исследования данные обрабатывали методами вариационной статистики. Нормальность распределения количественных показателей проверяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. 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 распределения, использовали непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$ [Лакин А.В., 1989]. С целью обнаружения связей между исследуемыми показателями проводили корреляционный анализ путем

вычисления коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r). Методом множественной регрессии были рассчитаны коэффициенты β , определяющие степень зависимости между исследуемыми показателями [Боровиков В.П., Боровиков И.П., 1998].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Вопросы, касающиеся молекулярно-биологических аспектов формирования персистентной вирусной инфекции, относятся к одним из актуальных проблем современной медико-биологической науки. Это связано как с возрастающей частотой хронизации инфекционного процесса, так и с возможностью развития опасных осложнений, вызванных реализацией онкогенного потенциала вирусов [Погодина В.В. и соавт., 1986; Tremoloda F. et al., 1991; Okoth F.A., 1996; Sharara A.L. et al., 1996; Серов В.В., Мухин Н.А., 2000; Антонов П.В., Цинзерлинг В.А., 2001; Абдурахманов Д.Т., 2002; Жукова Н.Г. и соавт., 2002]. Представители большинства таксономических групп вирусов могут служить причиной развития патологических процессов, при которых их репликация обеспечивается жизнеспособностью клетки-хозяина [Oldstone M.B., 1989; Dillon A.P., Dusheiko G.M., 1995; Апросина З.Г., Серов В.В., 2001; Игнатова Т.М., Серов В.В., 2001; Arbutnot P., Kew M., 2001].

Иммунная система является одной из основных (наряду с нервной и эндокринной) систем, участвующих в формировании стратегии функционирования организма в новых условиях. Как известно, в ответ на попадание во внутреннюю среду организма вирусных антигенов срабатывают все механизмы иммунного ответа (врожденные и приобретенные), направленные на ограничение и элиминацию инфекции. В случае же внутриклеточного проникновения вирусов ведущую роль, по общему признанию, отводят реакциям клеточного иммунитета [Семенов Б.Ф. и соавт., 1982; Kozeil M.G., 1997; Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2000]. В проблеме персистирующих инфекций особый интерес к структурно-функциональному состоянию лимфоцитарных клеток обусловлен не только тем фактом, что иммунная система принимает непосредственное участие в реализации инфекционного процесса, но и тем обстоятельством, что иммунокомпетентные клетки сами по себе являются мишенью для действия вирусов, в частности возбудителей клещевого энцефалита и гепатитов В и С [Lerat H. et al., 1998; Апросина З.Г., Серов В.В., 2001]. Неразрешенным остается вопрос о причинах, приводящих при воздействии разных возбудителей к одному исходу – формированию хронической вирусной инфекции.

Количественный анализ клеток белой крови показал, что у пациентов с персистенцией вирусов клещевого энцефалита, гепатита В и С отмечалось

умеренное увеличение относительного и абсолютного содержания лимфоцитов ($p < 0,05$). Аналогичные результаты были получены и другими исследователями [Кузьяев Р.З. и соавт., 1998; Маммаев С. Н., 2002].

Важнейшей особенностью адаптивной системы иммунитета является избирательное вовлечение в иммунный ответ только тех лимфоцитов, которые несут рецепторы, распознающие антигены [Ярилин А.А., 1999]. Этот процесс осуществляется с участием тесно связанных и взаимно усиливающих друг друга различных субпопуляций Т-лимфоцитов [Chisari F.V. et al., 1995]. Как показали результаты настоящего исследования, количественные сдвиги со стороны Т-клеточного звена, выразившиеся в достоверном увеличении абсолютного содержания Т-лимфоцитов, несущих CD3-рецептор, были зарегистрированы лишь у пациентов с бессимптомным вирусоносительством клещевого энцефалита и у больных хроническим гепатитом умеренной степени активности, вызванным микст-инфекцией HBV+HCV (рис.1).

Полученные другими авторами результаты исследований носят весьма разнородный характер. Так, Н.П. Толоконская [1999] подчеркивает, что в силу низкой иммуногенности HCV для гепатита С иммунопатологические реакции не характерны. Другие исследователи утверждают, что в патогенезе хронического вирусного гепатита иммунопатологический компонент выражен значительно. Доказательства этого построены прежде всего на том, что HBV- и HCV-инфекции ассоциируются со многими экстрапеченочными заболеваниями, имеющими иммунопатологический генез: криоглобулинемия, васкулиты, мембранопротрофирующий гломерулонефрит, апластическая анемия и др. [Апросина З.Г. и соавт., 1994; Апросина З.Г., Серов В.В., 1995; Sharara A.I. et al., 1996; Серов В.В., Мухин Н.А., 2000; Харламова Ф.С. и соавт., 2001].

Детальное исследование субпопуляционного состава циркулирующих Т-лимфоцитов с убедительностью доказало факт разбалансировки соотношения количества регуляторных и эффекторных клеток (рис. 1). Примечательно, что аналогичные показанным изменения Т-клеточного звена иммунитета были обнаружены у пациентов с персистенцией вируса клещевого энцефалита, несмотря на различную таксономическую принадлежность возбудителя и ведущими клиническими проявлениями исследуемых инфекционных патологий (рис. 1).

Интерпретируя явление значимого уменьшения доли Т-хелперов в периферической крови, следует отметить, что эффективность противовирусного иммунитета определяется не столько его интенсивностью, сколько количественной и качественной адекватностью иммунного ответа силе антигенного раздражения [Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 1999; Ярилин А.А., 1999; Маммаев С.Н., 2002]. Достоверно низкий уровень экспрессии молекул CD4 у обследованных нами пациентов свидетельствует о том, что при хроническом течении рассматриваемых инфекций Т-клеточный пролиферативный ответ на

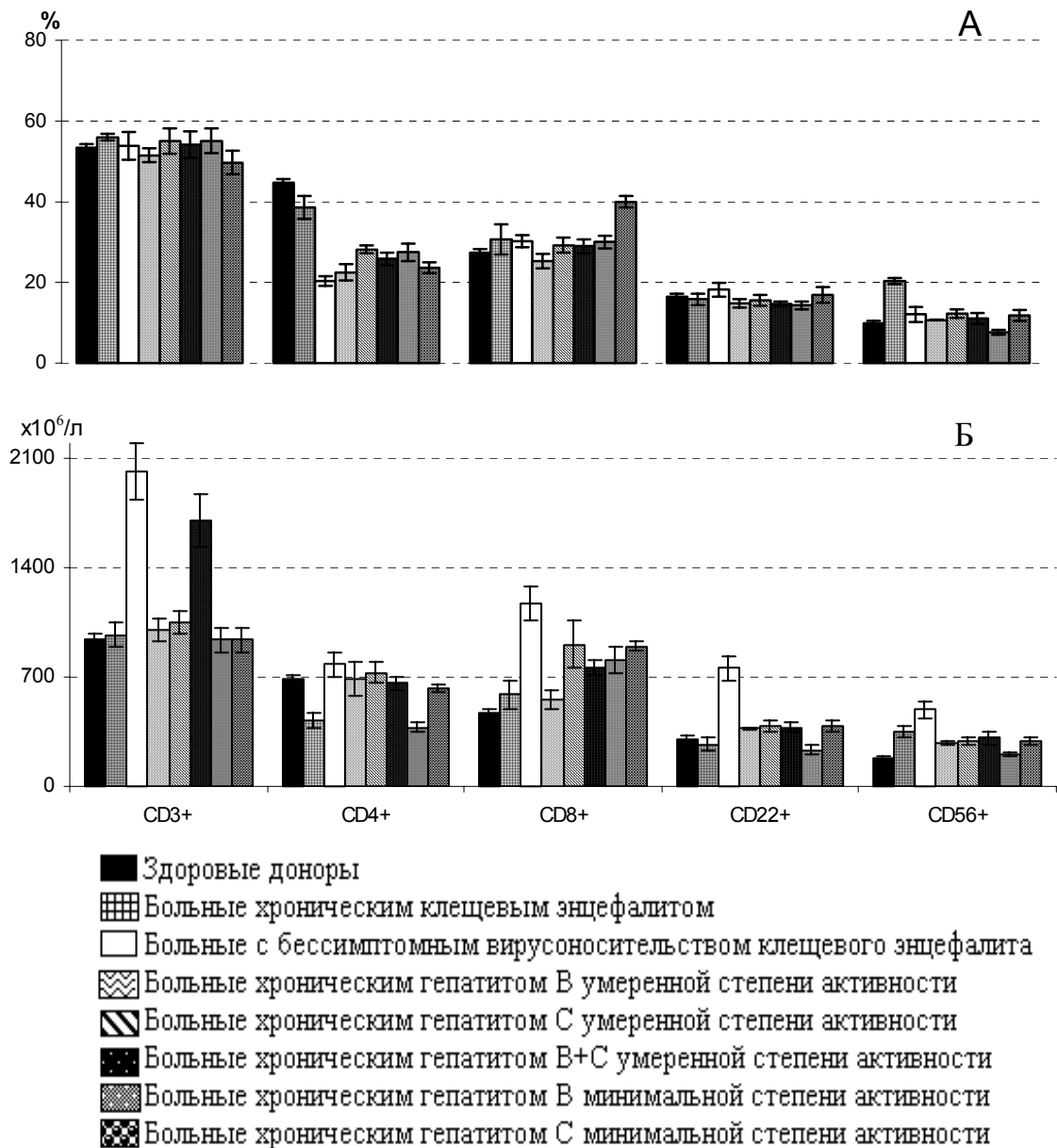


Рис. 1. Особенности иммунофенотипического профиля лимфоцитарной популяции у пациентов с персистенцией вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С в относительных (А) и абсолютных (Б) единицах

вирусные антигены является довольно слабым. Подобные предположения высказывались и другими авторами [Gramp M.E. et al., 1999; Маммаев С.Н., 2002].

В настоящее время известно, что CD4+-лимфоциты под влиянием антигенпрезентирующих клеток (в основном макрофагов), экспрессирующих при помощи молекул HLA II класса на своей поверхности вирусный антиген, пролиферируют с образованием Th1-хелперов (в этом процессе важное значение отводится интерлейкину-12) [Naoumov N.V., Rossol S.J., 1997; Ивашкин В.Т. и соавт., 2001; Маммаев С.Н., 2002]. В свою очередь эти клетки, выделяя цитокины интерлейкин-2, γ -интерферон, фактор некроза опухоли- α , усиливают и

стимулируют функцию цитотоксических лимфоцитов (CD8+), а также могут сами непосредственно вызывать лизис инфицированной клетки [Chsari F.V. et al., 1995; Kozeil M.J., 1997; Tsai S.L. et al., 1997; Pape G.R. et al., 1999]. Установлено также, что вирусспецифические Th1-хелперы могут уничтожать вирус и без разрушения клетки. Этот механизм реализуют секретлируемые ими γ -интерферон и фактор некроза опухоли- α , которые, проникая внутрь инфицированной клетки, дестабилизируют вирусную РНК [Guielotti L.C. et al., 1996; Kozeil M.J., 1997; Pape G.R. et al., 1999]. Исходя из данного положения можно считать, что низкая экспрессия молекул CD4 у обследованных пациентов свидетельствует о довольно слабом Т-клеточном пролиферативном ответе CD4+-лимфоцитов на антигены вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С при хронической вирусной инфекции. Подобного мнения придерживаются и другие авторы [Cramp M.I. et al., 1999; Ивашкин В.Т. и соавт., 2001; Маммаев С.Н., 2002].

Одним из установленных факторов, определяющих неполноценность и дефект популяции CD4+-лимфоцитов, является Нbe-антиген вируса гепатита В [Абдурахманов Д.Т., 2001], который, захватываясь макрофагами и другими антигенпрезентирующими клетками, направляет пролиферацию Т-хелперов по альтернативному пути с накоплением пула Th2-хелперов. Хелперные лимфоциты второго типа, выделяя противовоспалительные цитокины интерлейкин-4 и интерлейкин-10, блокируют пролиферацию Th1-хелперов, подавляя таким образом специфические цитотоксические реакции [Milich D.R., 1997; Ивашкин В.Т. и соавт., 2001]. При хронической HCV-инфекции также получены данные о нарушении равновесия в активации CD4+-лимфоцитов по пути доминирования Th2-ответа. Предполагается, что в ингибировании экспрессии клетками CD4-молекулы определенную роль играют провоспалительные цитокины, в частности, фактор некроза опухоли- α и интерлейкин-1 β [Tsai S.L. et al., 1997; Шемшур А.Б., 2000; Маммаев С.Н., 2002].

Известно, что среди механизмов клеточной защиты при противовирусном иммунном ответе ведущее положение занимает специфическая цитотоксическая активность Т-клеток, несущих маркер клеточной дифференцировки CD8 [Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 1999; Ярилин А.А., 1999; Ивашкин В.Т. и соавт., 2001]. Цитотоксические Т-лимфоциты, распознающие вирусные антигены, образуются в ходе межклеточной кооперации между макрофагами, Т-хелперами и эффекторными Т-лимфоцитами-предшественниками (посттимические Т-клетки).

Развивающееся на фоне функциональной недостаточности Т-хелперного лимфоцитарного звена усиление иммуносупрессорных реакций, по всей видимости, является возможной причиной неадекватности иммунного ответа [Семенов Б.Ф. и соавт., 1982; Петров Р.В., 1999]. В пользу этого предположения говорит и выявленное нами значительное увеличение абсолютного содержания CD8+-лимфоцитов периферической крови, обладающих супрессорной и

цитотоксической активностью, практически у всех обследованных пациентов (за исключением больных хроническим гепатитом В умеренной степени активности и хроническим клещевым энцефалитом, у которых средние значения данного параметра, хотя и были несколько повышенными относительно нормы, но не достигали достоверного уровня значимости) (рис. 1, Б). У большинства пациентов с вирусной персистенцией ответ цитотоксических лимфоцитов является мультиспецифичным, направленным как на структурные, так и неструктурные белки вирусов [Апросина З.Г. и соавт., 1994; Kozeil M.J., 1997].

CD8+-клетки распознают антиген только в комплексе с молекулами HLA-I. Экспрессия вирусных антигенов в комплексе с антигеном гистосовместимости на поверхности пораженной клетки происходит значительно раньше репликации вируса, поэтому цитотоксический лизис лишает инфектоген условий для репликации и делает их доступными для антител [Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 1999; Ярилин А.А., 1999]. По мнению В. Reherman et al. [1996], а также С.Н. Маммаева [2002], незначительное повышение количества клеток, экспрессирующих CD8, свидетельствует о том, что реакции цитотоксических лимфоцитов по своим темпам значительно уступают интенсивности вирусной репликации. В итоге иммунный ответ оказывается недостаточным для полной эрадикации.

Предполагается существование нескольких путей индукции дифференцировки CD8+-клеток [Ярилин А.А., 1999]. Один из них связан с действием антигенпрезентирующих клеток, способных обеспечить достаточный стимул, чтобы активировать Т-супрессоры/киллеры и заставить их вырабатывать интерлейкин-2, необходимый для дальнейшего развития и пролиферации. Допускается, что Т-хелперы после стимуляции антигенпрезентирующими клетками синтезируют большое количество интерлейкина-2, которым они обеспечивают умеренно активированные цитотоксические лимфоциты [Milich D.R., 1997]. В связи с низкой экспрессией CD4 молекул у исследованных пациентов с персистированием вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С (по данным определения относительного содержания CD4+-лимфоцитов) активация CD8+-клеток по этому механизму является недостаточной. Элиминация возбудителя посредством разрушения клеток-хозяев может быть нарушена также по причине инфицированности CD8-позитивных лимфоцитов, не способных в полной мере осуществлять киллерные функции [Апросина З.Г., Серов В.В., 2001; Игнатова Т.М., Серов В.В., 2001; Маммаев С.Н. и соавт., 2002]. Такой способ модифицирования иммунных реакций весьма характерен для возбудителей гепатита С и клещевого энцефалита [Букринская А.Г., 1986; Погодина В.В. и соавт., 1986; Lerat H. et al., 1998; Апросина З.Г., Серов В.В., 2001].

Пониженная реактивность Т-звена иммунитета при хронической вирусной инфекции может рассматриваться либо как результат нарушения представления антигена антигенпрезентирующими клетками, либо как нарушение функции самих

Т-клеток [Апросина З.Г., Серов В.В., 2001; Игнатова Т.М., Серов В.В., 2001; Маммаев С.Н. и соавт., 2002]. Однако на сегодняшний день имеется слишком мало данных, на основании которых можно было бы более определенно говорить об изменении презентации антигена при HBV- и HCV-инфекции и клещевом вирусном энцефалите.

Не менее важная роль в защите организма от внутриклеточных инфектогенов принадлежит НК-клеткам, осуществляющих реакции неспецифической цитотоксичности [Reherman V. et al., 1996; Ярилин А.А., 1999]. Реализация функций лимфоцитов-киллеров по отношению к клеткам-мишеням обусловлена экспрессией на их поверхности антигена CD16, который распознает Fc-фрагмент иммуноглобулинов класса G. Конечным результатом такого распознавания является антителозависимый клеточно-опосредованный цитолиз [Mason L.H. et al., 1994; Wallace P.K. et al., 1994]. Другой функцией НК-клеток является их участие в общем каскаде синтеза цитокинов (α -, γ -интерфероны, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, интерлейкины-3, -8 и др.), активирующих новых участников иммунной защиты [Петров Р.В., 1999; Ярилин А.А., 1999; Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., 2000].

В свете вышеизложенного обнаруженное нами достоверное повышение абсолютного числа CD56-позитивных лимфоцитов у обследованных пациентов (за исключением больных хроническим гепатитом В минимальной степени активности) может свидетельствовать о компенсаторной пролиферации НК-клеток. Выявленные изменения, на наш взгляд, строго коррелируют с потенцируемой антигенным воздействием секрецией α -интерферона макрофагами [Ершов Ф.И., 1996; Приймаги Л.С. и соавт., 1999], который обуславливает повышение цитотоксичности естественных киллеров через активацию перфоринового пути [Par G. et al., 2000]. Увеличение числа лимфоцитов с фенотипом CD56 служит благоприятным прогностическим признаком заболевания. Однако, на фоне низкой реактивности Т-клеточного звена иммунитета их функция может быть неполноценна [Тотолян А.А., Фрейдлин И.С., 1999]. Значительная активность НК-клеток может служить отражением участия в патогенезе повреждающих механизмов иммунного ответа, а также длительности течения патологического процесса [Хозинский В.В., Семенов Б.Ф., 1983; Corado J. et al., 1997].

Роль гуморальной иммунной системы по сравнению с клеточно-опосредованными реакциями не так значима. Проведенное нами исследование количества клеток, экспрессирующих молекулу CD22 (общий популяционный рецептор В-лимфоцитов), показало, что содержание В-лимфоцитов у обследованных больных не отличалось от аналогичных значений у здоровых лиц (за исключением пациентов с субклиническим течением клещевого энцефалита, у которых было зарегистрировано достоверное повышение абсолютного числа CD22+-клеток по сравнению с аналогичным параметром у здоровых доноров и

больных хронической формой данной нейроинфекции) (рис. 1). На отсутствие решающей роли В-лимфоцитов в элиминации вирусов гепатита из организма хозяина указывают и результаты других клинических исследований, в ходе которых значимых различий в уровне продукции иммуноглобулинов при данных инфекциях не регистрировалось [Burioni R. et al., 1998; Hempel G. et al., 2000; Фридлянд И.Ф. и соавт., 2002]. Причиной «ускользания» вирусов от антител, вероятно, служит высокая мутационная изменчивость вирусного генома, особенно выраженная у возбудителя гепатита С, вследствие которой антитела не способны предотвратить инвазию вируса [Weiner A.J. et al., 1992; Caldwell C.A., Lucey M.R., 1995; Van Doorn L.J., et al., 1995; Абдурахманов Т.Д., 2001].

В целом результаты проведенного нами исследования согласуются с мнением большинства авторов, занимающихся выявлением особенностей состояния иммунной системы в условиях хронического инфекционного процесса. Как видно, в наибольшей степени изменения её функционирования затрагивают систему неспецифической резистентности и Т-клеточное звено. В-звено иммунитета в меньшей степени реагирует на изменения антигенного гомеостаза.

Возможно, что одним из основополагающих механизмов вирусной персистенции является модуляция программированной клеточной смерти. Установлено, что многие вирусы, вмешиваясь в регуляцию внутриклеточного гомеостаза, изменяют соотношение между ростовым и апоптозным потенциалом инфицированных клеток. Между тем, клетки с такими нарушениями в норме элиминируются путем апоптоза [Маянский А.Н. и соавт., 1997; Сепиашвили Р.И. и соавт., 2000]. Очевидно, что для долговременной вирусной персистенции необходимо блокировать апоптозный ответ. Исход вирусной инфекции с одной стороны связан со способностью вирусов блокировать апоптотический потенциал инфицированной клетки, а с другой – с интенсивностью активации процесса физиологической гибели инфицированной клетки как составной части защитного механизма организма.

Известно, что процесс программированной клеточной смерти может быть реализован через специфические киллерные рецепторы, включающие программу апоптоза, в частности Fas и KILLER/DR₅ [Owen-Schub L.B. et al., 1995; Сепиашвили Р.И. и соавт., 2000]. Fas/APO-1 (CD95) представляет собой трансмембранный рецептор с молекулярной массой 48 кДа, состоящий из обогащенного остатками цистеина экстраклеточного домена (155 аминокислот), трансмембранных (19 аминокислот) и внутриклеточных (145 аминокислот) доменов. Данный рецептор принадлежит к суперсемейству рецепторов факторов некроза опухолей и роста нервов. Основная его функция – индукция апоптоза. Вместе с тем CD95 может играть определенную роль и в стимуляции клеточной пролиферации. Многочисленными исследованиями показано, что Fas/APO-1 экспрессируется на поверхности клеток многих типов: на иммунокомпетентных клетках, фибробластах, гепатоцитах, кератиноцитах, миеломных клетках

[Невницкий Л.А., 1996; Сепиашвили Р.И. и соавт., 2000; Бойчук С.В., Мустафин И.Г., 2001]. Активация рецептора наступает после его тримеризации в результате связывания специфического лиганда Fas-L или моноклональных антител (IgM, IgG). В случае этого его тримерный цитоплазматический домен приобретает способность к дальнейшей передаче сигнала на каспазу-8, которая приводит в действие ферментативный каскад активации каспаз [Alnemri E.S. et al., 1996; Маянский А.Н. и соавт., 1997; Nagata S., 1997; Казначеев К.С., 1999; Самуилов В.П. и соавт., 2000].

Изучая уровень проапоптотической готовности иммунокомпетентных клеток периферической крови, мы обнаружили с высокой степенью достоверности увеличение абсолютного числа лимфоцитов, несущих CD95-рецептор, у пациентов с клинически бессимптомным носительством вируса клещевого энцефалита по сравнению со средними значениями аналогичного параметра у здоровых лиц (рис. 2, Б). При определении количественных показателей лимфоцитов, экспрессирующих CD95-рецептор, у пациентов с длительной персистенцией возбудителей гемоконтактных гепатитов было выявлено, что их абсолютное содержание при хронических гепатитах С и В+С умеренной степени активности, а также при хроническом гепатите С минимальной степени активности достоверно превышало средний уровень CD95⁺-клеток у здоровых доноров (рис. 2, А). В ходе исследования было также обнаружено, что для

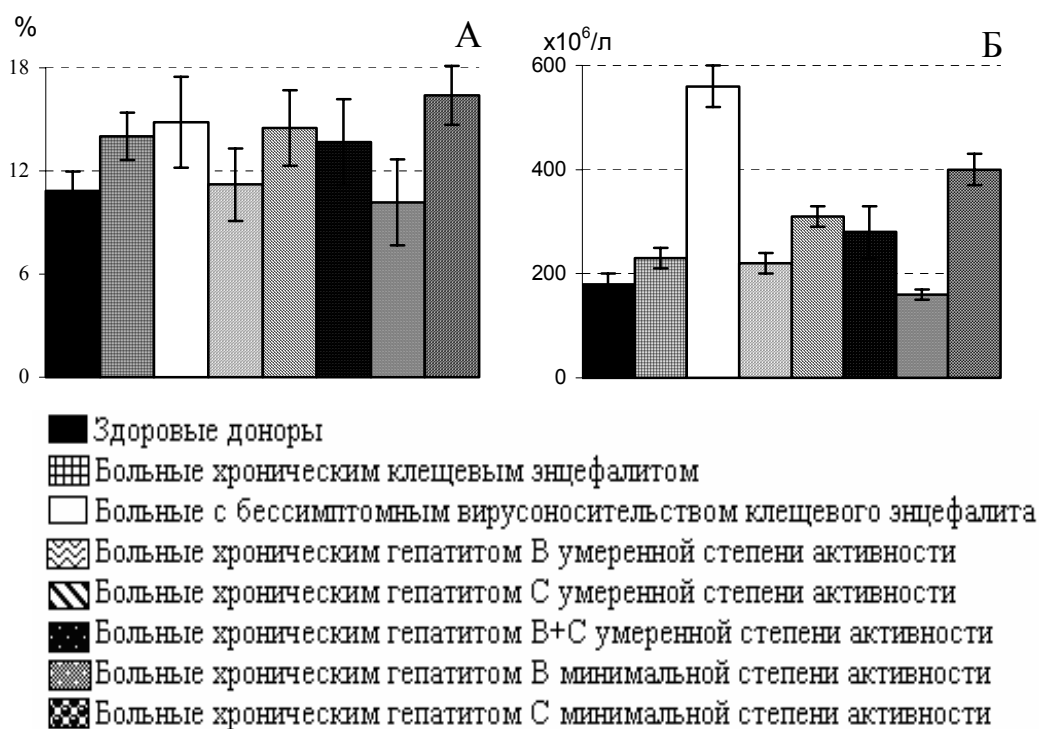


Рис. 2. Относительное (А), абсолютное (Б) содержание CD95⁺- лимфоцитов крови у пациентов с персистенцией вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С

пациентов с длительной персистенцией вируса гепатита В без выраженных клинических проявлений инфекционного процесса не характерно увеличение количества лимфоцитов, презентующих маркер проапоптотической готовности (рис. 2, А, Б).

Однозначная интерпретация полученных результатов представляется затруднительной. По всей видимости, вероятно доминирующее влияние системного воспалительного ответа, характеризующегося секрецией ряда провоспалительных цитокинов, из которых наибольшее значение имеет фактор некроза опухоли- α (ФНО- α). В ряде исследований убедительно продемонстрирована повышенная системная секреция данного цитокина при хронических гепатитах В и С [Nelson D.R. et al., 1995; Маммаев С.Н. и соавт., 2000]. Как известно, ФНО- α является одним из ведущих проапоптогенных факторов, осуществляющих своё действие посредством связи с соответствующим рецептором. Различия в уровне проапоптотической готовности лимфоцитов у пациентов с персистированием вирусов гепатита В и С могут быть связаны с различной интенсификацией системного воспалительного ответа при этих нозологических формах. Повышение количества CD95+-клеток у бессимптомных носителей вирусов клещевого энцефалита и гепатита С правильно рассматривать, по нашему мнению, как адекватную реакцию организма, направленную на элиминацию инфектогена. Возможно, именно поэтому у данных пациентов отсутствуют клинические проявления инфицированности. Напротив, при хронизации патологического процесса происходит срыв компенсаторных механизмов регуляции в системе иммунитета и преобладание антиапоптотического потенциала вируса над защитными клеточными реакциями, что, вероятно, и было выявлено нами у больных хроническим клещевым энцефалитом и хроническим гепатитом В умеренной степени активности, имевшими уровень CD95+-лимфоцитов, сопоставимый с нормой (рис. 2, А, Б).

Для определения характера взаимосвязей уровня экспрессии маркера повышенной чувствительности к проапоптогенным сигналам (CD95) на циркулирующих лимфоцитах с изученными иммунологическими показателями (содержание Т-клеток и их субпопуляций, В-лимфоцитов и НК-клеток) и определения его значения в изменении клеточного состава иммунокомпетентной системы в зависимости от клинических проявлений хронического вирусоносительства был проведен корреляционный и в последующем пошаговый регрессионный анализы.

В ходе установления зависимости между исследуемыми параметрами было показано, что в группе здоровых доноров число CD95+-клеток положительно коррелировало только с содержанием Т-хелперных лимфоцитов ($r=0,44$, $p<0,05$), что согласуется с общепринятыми представлениями о преимущественном использовании системы FasL/Fas CD4+-Th1-лимфоцитами, которым свойственна цитотоксичность [Nagata S., 1997]. Fas-опосредованный апоптоз также является

основным путем элиминации Т-лимфоцитов после выполнения ими своей функции [Takahashi T. et al., 1994; Wu J. et al., 1994; Nagata S., Goldstein P., 1995; Уманский С.Р., 1996].

Результаты корреляционного анализа указанных показателей у пациентов с длительной персистенцией вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С позволили выявить определенные связи, отличающиеся от аналогичных параметров, зарегистрированных у здоровых лиц. Так, у больных с клиническими симптомами хронической вирусной инфекции усиление готовности иммунокомпетентных клеток к апоптозу было сопряжено с возрастанием количества «естественных» киллеров (CD56) ($r=0,85$, $p<0,05$). Выявленная зависимость, с одной стороны, свидетельствует о Fas-зависимой цитотоксичности, проявляемой НК-клетками, а с другой – о неэффективности функции CD56+ лимфоцитов на фоне низкой реактивности Т-клеточного звена иммунитета [Тоголян А.А., Фрейдлин И.С., 1999].

По сравнению с другими группами обследованных лиц в группе пациентов с бессимптомным вирусносительством было выявлено существенно большее число корреляционных связей. При регрессионном анализе было установлено, что из выявленных значимых параметров (CD3+, CD8+, CD56+) наибольший вклад в общий уровень проапоптотической готовности лимфоцитов периферической крови вносят CD3+-клетки ($\beta=1,06$, $p<0,05$). Полученный результат, согласно теории А.Н. Cheredeev et al. [1997], объясняется усиленной апоптотической гибелью Т-лимфоцитов крови, которую можно рассматривать с точки зрения защитной реакции организма на присутствие вирусного инфектогена, как форму «альтруистического самоубийства», направленного на противостояние высокому мутационному потенциалу лимфоцитов и дальнейшей экспансии возбудителя [Владимирская Е.Б. с соавт., 1987; Маянский А.Н. и соавт., 1997; Roy D.J et al., 2000; Belanher C. et al., 2001; Bellows P.S. et al., 2002].

Таким образом, данные, полученные при обследовании пациентов с хронической персистенцией вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С, свидетельствуют о дефектах Т-клеточного звена иммунитета, проявляющихся в количественном и в качественном изменениях его субпопуляционного состава. Этот феномен, как нам представляется, можно рассматривать двояко: как защитный, и как патологический эффект. Однозначно трактовать выявленные изменения с позиции патологического процесса не представляется возможным, поскольку грань между нормой и патологией в условиях формирования вирусносительства весьма размыта, и равновесие взаимоотношений в системе вирус – клетка является динамичным.

Исходя из предположения, что иммуносупрессорная активность вирусов связана с их повреждающим влиянием на хромосомный аппарат клеток-мишеней, нами была предпринята попытка оценить цитогенетический статус лимфоцитов. Используя метод подсчета хромосомных aberrаций в метафазных пластинках,

было обнаружено достоверное увеличение количества лимфоцитарных клеток со структурными хромосомными aberrациями у больных хроническим клещевым энцефалитом с минимальной неврологической симптоматикой ($3,31 \pm 0,31\%$, $p < 0,01$) и у бессимптомных вирусоносителей ($3,00 \pm 0,27$, $p < 0,01$), у пациентов с хроническим гепатитом В ($2,70 \pm 0,33\%$, $p < 0,01$), С ($2,50 \pm 0,46\%$, $p < 0,01$) и В+С ($2,90 \pm 0,43\%$, $p < 0,01$) умеренной степени активности по сравнению со средними значениями аналогичного показателя у здоровых доноров ($1,28 \pm 0,35\%$). Анализ типов хромосомных нарушений показал, что основную часть aberrаций составляли одиночные фрагменты, типовые для вирусных инфекций: у пациентов со стертой формой хронического клещевого энцефалита – $3,31 \pm 0,31\%$ ($p < 0,01$); у пациентов с бессимптомным вирусоносительством клещевого энцефалита – $3,00 \pm 0,27\%$ ($p < 0,01$); у больных HBV-гепатитом – $2,00 \pm 0,26\%$ ($p < 0,01$); у больных HCV-гепатитом – $1,62 \pm 0,32\%$ ($p < 0,05$), у больных HBV+HCV-гепатитом умеренной степени активности – $2,10 \pm 0,41\%$ ($p < 0,01$), что достоверно превышало средние значения соответствующего показателя у здоровых доноров ($1,28 \pm 0,35\%$). Наряду со структурными нарушениями хроматидного типа при персистенции вируса клещевого энцефалита существенный вклад в частоту встречаемости aberrантных лимфоцитов вносили парные фрагменты, количество которых во всех исследуемых группах (клинически выраженное и бессимптомное течение клещевой нейроинфекции) также оказалось статистически более значимым ($p < 0,01$ во всех случаях), чем в контроле. В ходе сравнительного исследования не было установлено связи между количеством клеток с нарушениями хромосомного аппарата и возрастом, полом пациентов, а также между видовой принадлежностью возбудителя и спектром aberrаций хромосом, что свидетельствует о неспецифичности некоторых цитогенетических эффектов, обусловленных воздействием различных инфекционных агентов [Aula P., 1965; Bernard R. et al., 1970; Авакова А.К., Рапопорт Р.И., 1971; Ильинских Н.Н., 1978; Bhatnagar A. et al., 1984; Уразова О.И. и соавт., 2002].

В настоящее время установлено, что повреждающее действие мутагенного фактора на клетки макроорганизма определяется не только характером и степенью выраженности вызываемых им хромосомных нарушений, но и эффективностью систем репарации, обеспечивающих поддержание цитогенетической нормы [Дубинин Н.П., 1982; Ильинских Н.Н. и соавт., 1992; Засухина Г.Д., Синельщикова Т.А., 1993].

При исследовании способности лимфоцитов восстанавливать повреждения клеточного генома, вызванных ультрафиолетовым облучением, было выявлено, что у пациентов с длительной персистенцией вируса клещевого энцефалита, а также у больных со стертой формой острого клещевого энцефалита индекс стимуляции системы эксцизионной репарации ДНК, отражающий процесс застройки поврежденной матрицы этой молекулы, имеет достоверно более низкие средние значения, чем у лиц контрольной группы (рис. 3).

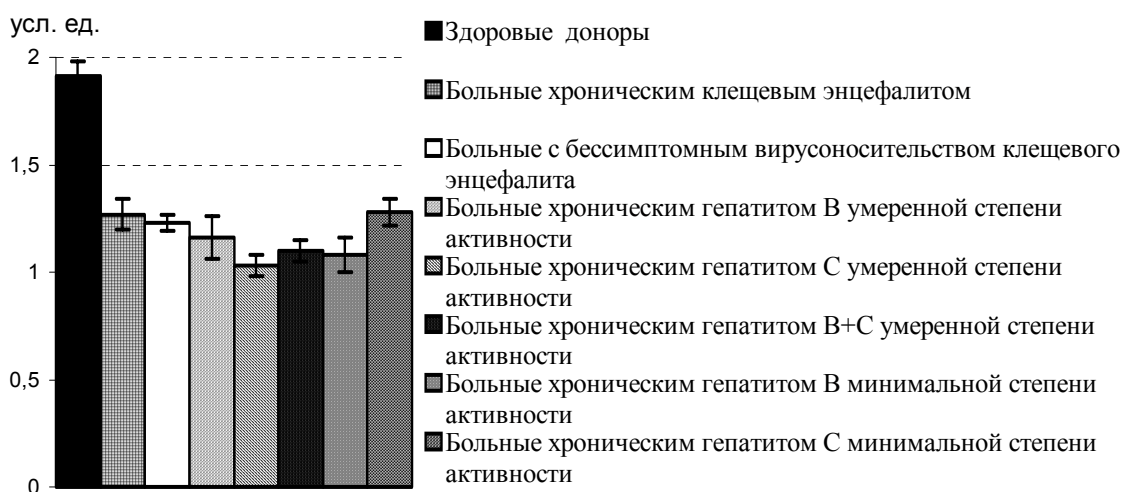


Рис. 3. Индекс стимуляции репарационной системы ДНК лимфоцитов крови у пациентов с персистенцией вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С

Самые низкие величины показателя интенсивности внепланового синтеза ДНК были зафиксированы в лимфоцитах у больных хроническим гепатитом С умеренной степени активности (рис. 3). Установление данного факта позволяет утверждать, что иммунокомпетентные клетки в условиях длительной персистенции исследуемых вирусов, особенно возбудителя гепатита С, обладают повышенной чувствительностью к мутагенным воздействиям.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что развитие вирусных инфекции, индуцируемых способными к пролонгированной персистенции возбудителями клещевого энцефалита, вирусных гепатитов В и С, сопровождаются явлениями выраженной цитогенетической нестабильности иммунокомпетентных клеток, регистрируемых на молекулярном (ДНК-репарационный анализ) и на клеточном (хромосомный анализ) уровнях организации живых систем.

Однако с помощью проведенного корреляционного анализа между исследованными показателями цитогенетического статуса при длительной вирусной персистенции удалось установить, что хромосомные аномалии лимфоцитов периферической крови у бессимптомных вирусоносителей и больных с клиническими проявлениями хронической формы инфекционной патологии разной этиологии (вирус клещевого энцефалита, вирусы гепатита В и С), а также у здоровых доноров не связаны ($p > 0,05$) с ингибированием репарационного синтеза ДНК в данных клетках. Следовательно, при хронизации вирусной инфекции в процесс дестабилизации генетического гомеостаза организма вмешиваются другие факторы. Предполагаемыми механизмами выявленных нарушений могут явиться интеграция вирусного генетического материала в геном клетки-мишени [Жданов В.М., 1990; Сингер М., Берг П., 1998; Ивашкин В.Т. и соавт., 2000; Апросина З.Г., Серов В.В., 2001; Игнатова Т.М., Серов В.В., 2001], высвобождение лизосомальных ферментов [Sakakura С. et al., 1989], а также интенсификация

процессов свободно-радикального окисления белков, липидов и нуклеиновых кислот [Yoshida M. et al., 1994; Kuedel U. et al., 1995; Маеда Х., Акаике Т., 1998].

Безусловно, в нашей работе мы смогли осветить лишь часть вопросов, связанных с формированием вирусной персистенции, не касаясь молекулярно-биологических особенностей вирусов, эволюции их генотипов, а делая акцент лишь на состоянии макроорганизма. По всей видимости, ключевую роль в механизмах развития хронического персистирования вирусного фактора играет состояние иммунной системы. Участие же вирусиндуцированных изменений иммунокомпетентных клеток в генезе дисбаланса иммунологического равновесия, на наш взгляд, не вызывает никаких сомнений. Между тем, оценка вклада возникающих при вирусной персистенции нарушений в иммунном ответе требует более углубленного и всестороннего изучения.

ВЫВОДЫ

1. Формирование персистенции вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С сопровождается нарушениями иммунологической реактивности и цитогенетической нестабильностью лимфоцитов периферической крови. Степень выраженности указанных расстройств определяется видом возбудителя и активностью инфекционного процесса.

2. У пациентов с хроническим течением клещевого энцефалита, гепатита С минимальной и умеренной степеней активности, гепатита В умеренной степени активности, а также микст-инфекции (гепатит В+С) на фоне увеличения содержания CD56⁺-клеток развивается дисбаланс Т-звена системы иммунитета, проявляющийся повышением количества CD8-позитивных лимфоцитов.

3. При персистенции вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С апоптотический потенциал лимфоцитарных клеток повышен. Проапоптотическая предуготовленность лимфоцитов периферической крови наиболее выражена при бессимптомном носительстве вируса клещевого энцефалита и у пациентов с хроническим гепатитом С минимальной степени активности.

4. Персистентное течение вирусных инфекций (клинически выраженная и бессимптомная персистенция вируса клещевого энцефалита, хронические гепатиты В, С и В+С умеренной степени активности) сопровождается структурными хромосомными aberrациями лимфоцитарных клеток, носящими неспецифический характер.

5. При персистенции вирусов клещевого энцефалита, гепатитов В и С снижается активность системы эксцизионной репарации ДНК лимфоцитарных клеток крови. Ингибирование репаративного синтеза ДНК наиболее выражено у больных с хроническим гепатитом С умеренной степени активности.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Зависимость репарационной активности лимфоцитов от клинической формы клещевого энцефалита // Тезисы докладов Международного симпозиума «Успехи современного естествознания», г.Сочи, 8-10 окт. 2002 г. - Москва, 2002. – С. 307 (в соавт. с Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Плотниковой Н.Н. и др.).

2. Некоторые структурные особенности плазматической мембраны лимфоцитов периферической крови при длительной персистенции вируса клещевого энцефалита // Тезисы докладов Международного симпозиума «Успехи современного естествознания», г.Сочи, 8-10 окт. 2002 г. - Москва, 2002. – С. 398 (в соавт. с Токаревой Н.В., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В. и др.).

3. Влияние длительной персистенции вируса клещевого энцефалита на активность репарационной системы ДНК лимфоцитов периферической крови // Сборник докладов 5-го Конгресса “Современные проблемы аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии”, г. Москва, 12-14 ноября 2002 г. – Москва, 2002. – Т. 2. - С. 341 (в соавт. с Плотниковой Н.Н., Рязанцевой Н.В., Новицким В.В. и др.).

4. Цитогенетический статус лимфоцитов периферической крови при длительной персистенции вируса клещевого энцефалита // Сборник научных трудов Всероссийской научной конференции «Нервно-психическое утомление человека в современных условиях», г. Черкесск, 13-15 ноября 2002 г. – С.61 (в соавт. с Михайловой О.В., Пироговой Н.П., Мельниковой Н.П.).

5. Структурные и функциональные особенности лимфоцитов у пациентов с хроническим носительством антигена вируса клещевого энцефалита // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. - №11. – С. 547-550 (в соавт. с Рязанцевой Н.В., Новицким В.В., Пироговой Н.П. и др.).

6. ДНК-репарационная активность лимфоцитов периферической крови при хронической персистенции вируса гепатита С // Вестник РГМУ. – 2003. - Т.28, №2. – Спецвыпуск: материалы Пироговской научной конференции, г. Москва, 2003. – С. 167 (в соавт. с Наследниковой И.О., Токаревой Н.В. и др.).

7. Биофизические особенности мембраны эритроцитов при хроническом носительстве вируса клещевого энцефалита // Вестник РГМУ. – 2003. - Т.28, №2. – Спецвыпуск: материалы Пироговской научной конференции, г. Москва, 2003. – С. 227-228 (в соавт. с Токаревой Н.В., Наследниковой И.О. и др.).

Автор выражает благодарность заведующему кафедрой инфекционных болезней СибГМУ МЗ РФ д.м.н., профессору А. В. Лепёхину, директору НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН д.м.н., профессору Е.Л. Чойнзонову, заведующей лабораторией онкоиммунологии этого же института д.б.н., профессору Н.В. Чердынцевой, главному врачу городской больницы №3 г. Томска к.м.н. А. А. Орешину, заведующей инфекционным отделением этой же больницы Г. В.

Западаевой за оказанное содействие в организации и проведении клинико-лабораторных исследований. В ходе исследования ценные теоретические и методические рекомендации были получены от профессора кафедры микробиологии СибГМУ д.м.н. М.Р. Карповой, ст. преподавателя этой же кафедры к.б.н. Т.Л. Мирютовой, доцента кафедры биологии и генетики СибГМУ к.м.н. Н.Н. Плотниковой, с.н.с. лаборатории онковирусологии НИИ онкологии ТНЦ СО РАМН к.м.н. Н.В. Севостьяновой, доцента кафедры медицинской кибернетики СибГМУ к.ф.-м.н. В.А. Фокина, ведущего научного сотрудника ЦНИЛ СибГМУ д.м.н. Ю.А. Козлова, с.н.с. отдела иммунологии ЦНИЛ СибГМУ к.м.н. Т.В. Перевозчиковой, за что автор приносит им искреннюю признательность.