



ИММУНОЛОГИЯ. НАУЧНАЯ СТАТЬЯ
IMMUNOLOGY. RESEARCH ARTICLE

DOI: 10.22363/2313-0245-2020-24-3-207-217

Иммунопатогенетические особенности и прогностические критерии тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом

М.Ф. Иванов¹, И.П. Балмасова², А.В. Жестков¹

¹ Самарский государственный медицинский университет, г. Самара, Российская Федерация

² Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова,
г. Москва, Российская Федерация

Аннотация. *Актуальность.* Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом — острое вирусное природноочаговое заболевание, проявляющееся геморрагическим синдромом и острой почечной недостаточностью, имеющее сложный иммунопатогенез и склонность к тяжелому течению. *Цель.* Оценка особенностей клеточно-иммунологических механизмов на ранних этапах ГЛПС разной степени тяжести и разработка на этой основе прогностических критериев риска тяжелого течения инфекционного процесса. *Материалы и методы.* Проведено иммунологическое исследование крови (метод проточной цитофлуориметрии) 12 больных с тяжелым течением ГЛПС и 53 пациентов со среднетяжелым течением в динамике заболевания. Статистическая обработка данных проведена на основе пакета программ SPSS. *Результаты.* На начальных этапах ГЛПС установлены иммунологические особенности тяжелого течения заболевания в виде более высокого содержания в крови Т-хелперов и регуляторных Т-клеток и сниженного количества ЦТЛ, включая их активированный пул. На основе отмеченных сдвигов разработан иммунологический прогностический коэффициент ГЛПС, позволяющий с высокой прогностической точностью определять риск тяжелого течения в первые дни (лихорадочный период) заболевания. *Заключение.* Полученные результаты позволили выявить неизвестные ранее особенности иммунного процесса на начальных этапах развития ГЛПС, что позволило предложить новый подход к прогнозированию тяжелого течения заболевания.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС), прогноз тяжелого течения, иммунопатогенез, фенотипы лимфоцитов

Вклад авторов: авторы внесли равный вклад в исследование и написание рукописи.

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что исследование проводилось в отсутствие каких-либо коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов

Финансирование. Источником финансирования научной работы служили государственные учреждения.

© Иванов М.Ф., Балмасова И.П., Жестков А.В. 2020



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Благодарности. Авторы выражают большую благодарность сотрудникам кафедры инфекционных болезней Самарского государственного медицинского университета за помощь в сборе клинического материала.

Поступила 22.05.2020. Принята 08.06.2020

Для цитирования: Иванов М.Ф., Балмасова И.П., Жестков А.В. Иммунопатогенетические особенности и прогностические критерии тяжелого течения геморрагической лихорадки с почечным синдромом // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2020. Т. 24. № 3. С. 207—217. DOI: 10.22363/2313-0245-2020-24-3-207-217

Immunopathogenetic features and prognostic criteria for severe hemorrhagic fever with renal syndrome

M.F. Ivanov¹, I.P. Balmasova², A.V. Zhestkov¹

¹Samara State Medical University, Samara, Russia;

²A.I. Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

Abstract. *Aim.* Assessment of the features of cellular immunological mechanisms at the early stage of HFRS of varying severity and development of prognostic criteria for the risk of a severe course of the infectious process. *Materials and methods.* An immunological blood test (flow cytometry method) was performed in 12 patients with severe HFRS and 53 patients with moderate course in the dynamics of the disease. Statistical data processing was performed based on the SPSS software package. *Results.* At the initial stages of HFRS, immunological features of the severe course of the disease were established in the form of a higher content of T-helper and regulatory T-cells in the blood and a reduced number of CTL, including their activated pool. Based on these changes, an immunological prognostic coefficient of HFRS was developed, which allows determining the risk of severe course in the early days (febrile period) of the disease with high prognostic accuracy. *Conclusion.* The results obtained allowed us to identify previously unknown features of the immune process at the initial stages of HFRS development, which allowed us to propose a new approach to predicting the severe course of the disease.

Keywords: hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS), severe prognosis, immunopathogenesis, lymphocyte phenotypes

Author contributions: the authors made an equal contribution to the study and writing of the manuscript.

Conflict of interest statement. The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Financing. The source of funding for scientific work was government agencies.

Acknowledgments. The authors express great gratitude to the staff of the Department of Infectious Diseases of the Samara State Medical University for their help in recruiting clinical materials.

Received 22.05.2020. Accepted 08.06.2020

For citation: Ivanov M.F., Balmasova I.P., Zhestkov A.V. Immunopathogenetic features and prognostic criteria for severe hemorrhagic fever with renal syndrome. *RUDN Journal of Medicine*. 2020; 24 (3): 207—217. DOI: 10.22363/2313-0245-2020-24-3-207-217

Введение

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) — острое вирусное природно-очаговое заболевание, проявляющееся геморрагическим синдромом, гемодинамическими расстройствами и поражением почек с развитием острой почечной недостаточности [1].

Возбудитель ГЛПС в соответствии с последней классификацией относится к семейству *Hantaviridae*, род *Orthohantavirus* [2]. В настоящее время известно более 80 серологически и генетически отличающихся друг от друга типов хантавирусов, из них около 25 обладают патогенностью для человека [1, 3]. Распространение отдельных типов хантавирусов в мире носит природно-очаговый характер. На территории России этиология ГЛПС связана с 5 типами хантавирусов, патогенных для человека. Наиболее активная очаговая территория расположена в широколиственных и хвойно-широколиственных лесах Приуралья и Среднего Поволжья [4], где возбудителем заболевания в подавляющем большинстве случаев является тип *Puumala* [5], а природным резервуаром служит европейская рыжая полевка [6]. Основными путями заражения человека от грызунов являются воздушно-пылевой и контактный через поврежденную кожу. Случаев заражения и передачи возбудителя ГЛПС от человека к человеку не зафиксировано [7].

Клинически заболевание характеризуется выраженной цикличностью течения, при этом выделяют следующие периоды болезни: инкубационный (от 1 до 5 недель, в среднем 2—3 недели), лихорадочный, продолжающийся в среднем от 3-х до 7-и дней, олигурический (в среднем 6—12 дней), полиурический (в среднем 6—14 дней), период реконвалесценции (ранний — до 2 месяцев и поздний — до 2—3 лет) [8, 9].

Наибольшую чувствительность к хантавирусам проявляет эндотелий венул при отсутствии прямого цитопатического воздействия на них самого вируса [10]. Кроме того, под влиянием вируса нарушается экспрессия белка ZO-1, определяющего плотные межклеточные контакты клеток почечных клубочков, в результате чего эти клетки при инфицировании хантавирусами теряют связь друг с другом. В настоящее время это признается исследовате-

лями как основной механизм повреждения почек при ГЛПС [11]. В число клеток, чувствительных к хантавирусам, входят не только эндотелиальные и эпителиальные клетки, но и макрофаги, дендритные клетки, лимфоциты, нейтрофилы, тромбоциты [12].

В связи с этим, характеризуя патогенез ГЛПС в целом, следует подчеркнуть, что данное заболевание служит одним из классических проявлений синдрома системного воспаления [13] на фоне дисфункции сосудистого эндотелия и нарушения почечных функций [14]. При анализе сложных патогенетических механизмов данного заболевания исследователи считают целесообразным особо выделять вирусные факторы, иммунные факторы, генетические особенности организма-хозяина [13].

В рекомендации по лабораторной диагностике ГЛПС входят клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови: мочевины, креатинин, аланинаминотрансфераза (АлАТ), аспаргатаминотрансфераза (АсАТ), исследование электролитов крови (калий, натрий, хлор) [1]. Помимо отдельных тестов для прогнозирования тяжелого течения создаются комплексы тестов и шкалы для их оценки: например, SAPS II, SOFA, H-SOFA, что повышает эффективность прогноза [15]. Однако, несмотря на многочисленные указания на роль иммунных факторов в патогенезе ГЛПС, иммунологические тесты пока не нашли своего места при осуществлении прогнозирования тяжести течения ГЛПС.

В связи с этим целью данного исследования послужили оценка особенностей клеточно-иммунологических механизмов на ранних этапах ГЛПС разной степени тяжести и разработка на этой основе прогностических критериев риска тяжелого течения инфекционного процесса.

Материалы и методы

Основным объектом данного исследования служила венозная кровь 65 больных ГЛПС в возрасте от 20 до 70 лет (28 мужчин, 37 женщин), находившихся на стационарном лечении в клинике инфекционных болезней Самарского государственного медицинского университета. Диагноз ГЛПС подтверждался серологически в реакции непрямой иммунофлуоресценции с парными сыворотками. У 12 больных клинически

было зарегистрировано тяжелое течение ГЛПС, а у остальных пациентов — заболевание средней тяжести. У всех пациентов было получено информированное согласие на участие в исследовании согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013) и обработку персональных данных.

Иммунологическое исследование крови проводилось в динамике в соответствии с основными периодами заболевания (лихорадочный, олигурический, полиурический, реконвалесценции) методом проточной цитофлуориметрии. Изучению подвергались следующие фенотипы лимфоцитов: CD19+ (В-лимфоциты); CD3+ (Т-лимфоциты); CD3+CD4+ (Т-хелперы); CD3+CD8+ (цитотоксические Т-лимфоциты, или ЦТЛ), в том числе ЦТЛ, экспрессирующие активирующий лектиновый рецептор NKG2D — CD3+CD8+CD314+; CD3+CD4+FoxP3+ и CD3+CD8+FoxP3+ (регуляторные Т-клетки); CD3+CD56+ (естественные киллерные Т-лимфоциты, или ЕКТ); CD16+CD56+ (естественные киллеры, или ЕК), в том числе ЕК, экспрессирующие активирующий лектиновый рецептор NKG2D -CD16+CD56+CD314+. Параллельно с иммунологическими исследованиями больным проводились: клинический анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови, исследование электролитов крови.

Статистически анализ проводился на основе пакета статистических программ SPSS (версия 21) и включал использование описательной статистики, непараметрической сравнительной статистики (критерий Манна-Уитни), регрессионного анализа, определение 95 %-ных доверительных интервалов показателей, построение ROC-кривых.

Результаты

На первом этапе исследований решался вопрос о том, каким образом динамика инфекционного процесса влияет на характер сдвигов со стороны числа лимфоцитов различных фенотипов у больных ГЛПС среднетяжелого и тяжелого течения. Результаты такого исследования представлены на рисунке 1, на котором показан процент отклонения относительных величин определяемых показателей у больных с тяжелым течением заболевания от аналогичных показателей при среднетяжелом течении в различные периоды ГЛПС.

Как показывают полученные результаты, на разных стадиях заболевания иммунологические показатели при тяжелом и среднетяжелом течении ГЛПС в значительной степени отличаются друг от друга, а спектр наблюдаемых различий максимален в дебюте заболевания, то есть в лихорадочный период, значительно сокращается в олигурический период, увеличивается в полиурический период

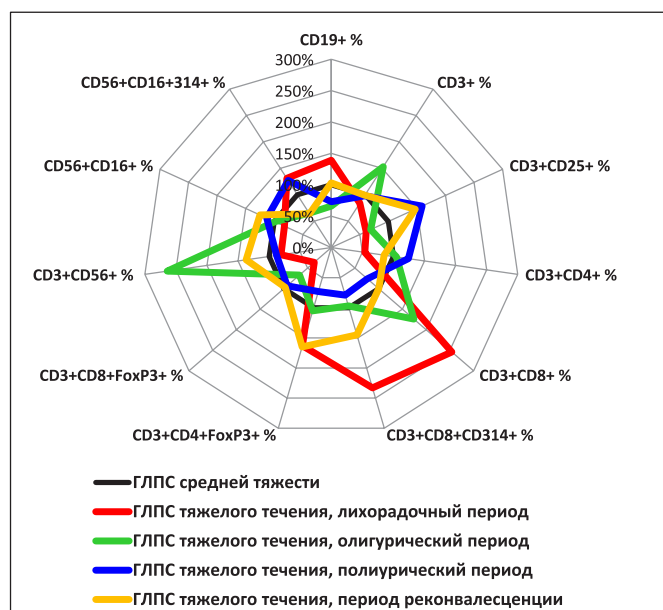


Рис. 1. Проценты отклонения иммунологических показателей пациентов с ГЛПС тяжелого течения от показателей среднетяжелого течения в динамике заболевания

Fig. 1. Percentage of deviation of immunological parameters of patients with severe HFRS from moderate course in the dynamics of the disease

и полностью исчезает в период реконвалесценции, хотя некоторые тенденции в развитии иммунного процесса при разной степени тяжести ГЛПС на этой стадии инфекции еще остаются.

Не вдаваясь в детали выявленных изменений, следует лишний раз подчеркнуть, что уже в начальный период ГЛПС иммунный ответ в случае неблагоприятного развития клинических проявлений заболевания приобретает довольно специфические черты, позволяющие предполагать возможность

использования наблюдаемых отклонений для прогнозирования тяжелого течения инфекционного процесса.

В связи с этим далее был проведен детальный сравнительный по тяжести заболевания анализ профилей фенотипических особенностей лимфоцитов в лихорадочный период ГЛПС. Результаты такого анализа на статистическом уровне представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели содержания в крови больных ГЛПС лимфоцитов адаптивного и врожденного иммунного ответа в лихорадочный период

Table 1

The lymphocytes levels of the adaptive and innate immune response in blood of patients with HFRS in the febrile period

Иммунологические показатели		Медиана [минимум; максимум]		p
		Пациенты с ГЛПС средней тяжести	Пациенты с ГЛПС тяжелого течения	
В-лимфоциты CD19+	%	12,5 [9; 12,5]	9 [8,5; 15,7]	0,653
	10 ⁹ клеток/л	0,2 [0,11; 0,29]	0,14 [0,05; 0,19]	0,275
Т-лимфоциты CD3+	%	62 [62; 73,7]	73,7 [62; 87]	0,346
	10 ⁹ клеток/л	1,40 [0,66; 1,43]	1,04 [0,66; 1,05]	0,376
Активированные Т-лимфоциты CD3+CD25+	%	5,9 [3,7; 18,7]	9,6 [9,4; 27]	0,275
	10 ⁹ клеток/л	0,14 [0,08; 0,17]	0,16 [0,09; 0,32]	0,513
Т-хелперы CD3+CD4+	%	32 [23,6; 35]	58,7 [46; 67]	0,046
	10 ⁹ клеток/л	0,53 [0,32; 0,74]	0,78 [0,53; 0,8]	0,184
ЦТЛ CD3+CD8+	%	32 [25,9; 46]	12,6 [10,6; 17,8]	0,041
	10 ⁹ клеток/л	0,58 [0,41; 0,74]	0,18 [0,11; 0,22]	0,022
NKG2D+ ЦТЛ CD3+CD8+CD314+	%	27,7 [13,6; 42,3]	11,9 [8,3; 24,3]	0,035
	10 ⁹ клеток/л	0,38 [0,22; 0,64]	0,14 [0,14; 0,22]	0,042
CD4+ регуляторные Т-клетки CD3+CD4+FoxP3+	%	15 [6,8; 15,5]	9,2 [4,9; 9,5]	0,278
	10 ⁹ клеток/л	0,15 [0,14; 0,34]	0,11 [0,07; 0,11]	0,083
CD8+ регуляторные Т-клетки CD3+CD8+FoxP3+	%	3,8 [2,5; 4,1]	10,4 [8,3; 12,5]	0,017
	10 ⁹ клеток/л	0,06 [0,04; 0,09]	0,12 [0,11; 0,14]	0,024
ЕКТ CD3+CD56+	%	2,5 [1,1; 12,8]	3,1 [1,5; 11,7]	0,827
	10 ⁹ клеток/л	0,03 [0,02; 0,12]	0,06 [0,03; 0,14]	0,827

Иммунологические показатели		Медиана [минимум; максимум]		P
		Пациенты с ГЛПС средней тяжести	Пациенты с ГЛПС тяжелого течения	
ЕК CD16+CD56+	%	11 [8,6; 19,4]	17,8 [7,7; 21,6]	0,827
	10 ⁹ клеток/л	0,19 [0,17; 0,25]	0,16 [0,13; 0,26]	0,513
NKG2D+ ЕК CD16+CD56+CD314+	%	3,4[3,9; 12,7]	2,6 [1,8; 7,2]	0,181
	10 ⁹ клеток/л	0,05 [0,04; 0,19]	0,04 [0,02; 0,09]	0,124

Примечание: p – вероятность различий в группе больных ГЛПС разной степени тяжести, серым цветом обозначена достоверность различий по критерию Манна-Уитни при $p < 0,05$.

Note: p is the probability of differences in the group of patients with HFPS of varying severity, gray indicates the significance of differences according to the Mann-Whitney criterion at $p < 0.05$.

Как следует из таблицы, достоверность различий по иммунологическим показателям между среднетяжелым и тяжелым течением ГЛПС в лихорадочный период выявлялась по следующим фенотипам лимфоцитов крови: более высокое (в 1,8 раза) относительное число Т-хелперов (CD3+CD4+), а также относительное и абсолютное число CD8+ регуляторных Т-клеток (в среднем в 2,3 раза), на фоне резкого снижения (в среднем в 4,4 раза) относительного и абсолютного числа ЦТЛ (CD3+CD8+), в том числе активированных CD3+CD8+CD314+ (в среднем в 2,5 раза ниже).

Для понимания функциональных взаимосвязей между указанными категориями лимфоцитов и понимания их активационных процессов нами определялись корреляционные взаимосвязи между ними в лихорадочный период с включением показателя числа Т-лимфоцитов, несущих маркер ранней активации CD25, являющийся субъединицей α -цепи рецептора фактора роста Т-лимфоцитов — интерлейкина-2 [16]. Результаты корреляционного анализа с указанием достоверно значимых коэффициентов корреляции Спирмена представлены на рисунке 2.

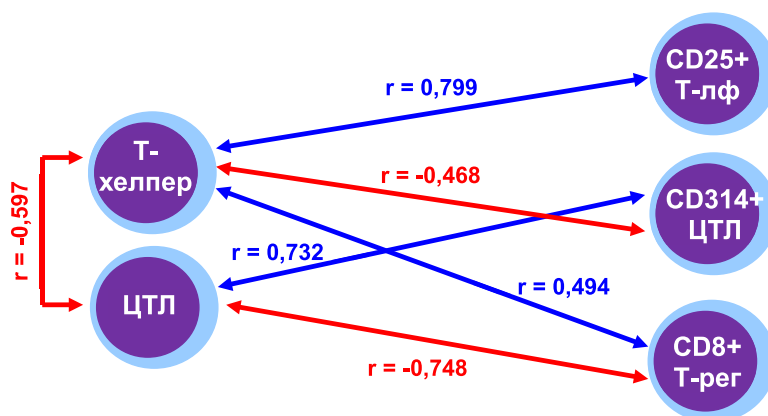


Рис. 2. Достоверные корреляционные связи между различными фенотипами Т-лимфоцитов у больных ГЛПС в лихорадочный период (— отрицательные корреляции, — положительные корреляции)

Fig. 2. Reliable correlation between various phenotypes of T-lymphocytes in patients with HFPS in the febrile period (— negative correlations, — positive correlations)

Представленная схема показывает, что между числом Т-хелперов и ЦТЛ существует умеренная отрицательная корреляционная связь. В то же время Т-хелпер проявляет выраженную положительную корреляцию с числом CD25+Т-лимфоцитов и умеренную связь с CD8+ регуляторными Т-клетками, а также, что естественно, умеренную отрицательную корреляцию с числом CD314+ ЦТЛ. ЦТЛ входят в состав корреляционных пар с CD314+ лимфоцитами через выраженную положительную связь и с CD8+ регуляторными Т-клетками — через столь же выраженную отрицательную связь. Иными словами, по характеру корреляционных связей можно предположить, что пути активации Т-хелперов и ЦТЛ при ГЛПС различны, в случае Т-хелперов — это усиление экспрессии рецепторов для интерлейкина-2, а в случае ЦТЛ — через рост экспрессии рецепторов к стресс-индуцированным молекулам. При этом раннее накопление в крови CD8+ регуляторных Т-клеток приводит к подавлению цитотоксических Т-лимфоцитов, но не Т-хелперов.

Далее указанные показатели были подвергнуты регрессионному анализу с целью получения интегрального иммунологического прогностического коэффициента ГЛПС (ИПК ГЛПС), который позволял бы еще на начальных этапах заболевания количественно характеризовать риск развития тяжелого течения заболевания. В результате было получено уравнение линейной регрессии следующего вида: $\text{ИПК ГЛПС} = 0,405 + 0,046 \times [\text{Th}] + 0,053 \times [\text{CTL}] + 0,178 \times [\text{NKG2D} + \text{CTL}] + 0,039 \times [\text{CD8} + \text{Treg}]$, где ИПК ГЛПС — иммунологический прогностический коэффициент ГЛПС, [Th] — процент Т-хелперов среди лимфоцитов крови, [CTL] — процент цитотоксических Т-лимфоцитов среди лимфоцитов крови, [NKG2D + CTL] — процент ЦТЛ, экспрессирующих NKG2D-рецептор, среди лимфоцитов крови, [CD8 + Treg] — процент регуляторных Т-клеток, экспрессирующих CD8 + маркер, среди лимфоцитов крови.

Подставляя в формулу значения показателей конкретного пациента, можно вычислить величину ИПК ГЛПС любого больного человека в первые 3—5 дней от появления первых симптомов заболевания до развития признаков почечной недостаточности, то есть в лихорадочный период.

Чтобы получить критериальные значения ИПК ГЛПС, при которых тяжелое течение заболевания становится наиболее вероятным, проводилось срав-

нение 95 %-ных доверительных интервалов этого коэффициента при среднетяжелом и тяжелом течении. Прогностическая значимость такого сравнения устанавливалась путем построения ROC-кривой, отражающей в форме линейной регрессии соотношение чувствительности и специфичности теста. Количественным выражением прогностической значимости служила площадь под ROC-кривой (AUROC), рассчитываемая статистической программой. При значениях $\text{AUROC} \leq 0,5$ тест как прогностически значимый не рассматривается, при значениях $\text{AUROC} 0,6—0,7$ прогностическая значимость теста считается умеренной, при величинах $0,71—0,8$ — тест высокозначим, а выше $0,8$ — его прогностическая значимость оценивается как очень высокая при максимальных значениях $\text{AUROC} = 1,0$ [17].

95 %-ные доверительные интервалы ИПК ГЛПС при среднетяжелом и тяжелом течении заболевания с обозначением величины прогностического критерия и ROC-кривая прогностической значимости теста представлены на рисунке 3.

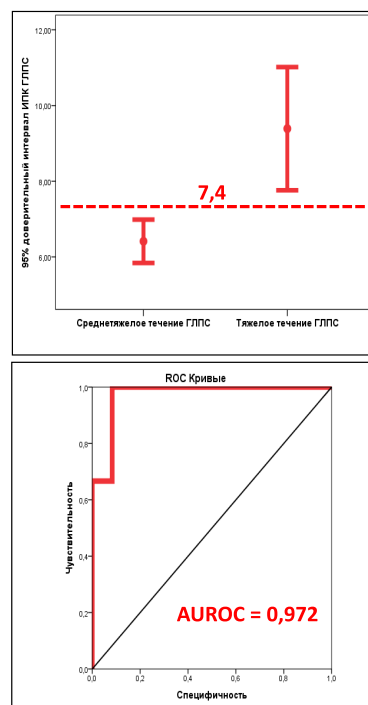


Рис. 3. 95 % доверительные интервалы ИПК у больных ГЛПС разной степени тяжести и ROC-кривая прогностической значимости коэффициента

Fig. 3. 95 % confidence intervals IPC in patients with HFRS different severity and ROC-curve of prognostic coefficient significance

Как следует из графика, разграничительная величина для 95 % доверительных интервалов ИПК у больных со среднетяжелым и тяжелым течением ГЛПС составляет 7,4. Иными словами, при ИПК ГЛПС $\geq 7,4$ у больного можно констатировать риск развития тяжелого течения заболевания. Прогностическая значимость ИПК ГЛПС очень велика, поскольку при построении ROC-кривой AUROC составляла 0,972, то есть была близка к максимальному значению площади под ROC-кривой.

Обсуждение

Полученные результаты заслуживают обсуждения как с теоретических, так и с прикладных позиций.

Судя по полученным нами данным, наиболее значимые отклонения в численном составе при тяжелом течении ГЛПС были отмечены в Т-клеточном звене иммунного ответа с участием Т-хелперов, ЦТЛ и регуляторных Т-клеток. По многим позициям эти факты совпадают с данными литературы.

В современной литературе подчеркивается, что Т-клеточный адаптивный иммунный ответ при вирусных инфекциях выполняет двойную роль. С одной стороны, он способствует элиминации вирусного возбудителя путем запуска гуморального и клеточного иммунного ответа с участием Т-хелперной субпопуляции (CD3+CD4+), а с другой стороны усугубляет повреждение органов и тканей через цитотоксическое повреждение клеток, инфицированных вирусом, цитотоксическими Т-лимфоцитами (ЦТЛ, CD3+CD8+) [18]. Обе эти роли в полной мере реализуются при хантавирусной инфекции [19], а Т-клеточный ответ коррелирует с тяжестью ГЛПС [20]. Наиболее выраженным при ГЛПС является рост числа CD8+ Т-лимфоцитов [21]. Этот показатель негативно коррелирует с уровнем креатинина и мочевины в крови [22], при этом была отмечена значительная инфильтрация ткани почек CD8+ Т-лимфоцитами [23]. В эксперименте показана роль этих клеток в развитии почечной гематурии [24].

Эти данные полностью совпадают с полученными нами результатами по лихорадочному периоду

заболевания. Новизна полученных нами данных связана зарегистрированным феноменом достоверного роста числа ЦТЛ, экспрессирующих активирующий рецептор NKG2D (CD314), специфичный для стресс-индуцированных белков (MICA, MICB) клеток-мишеней, что косвенно может свидетельствовать о нарастании активационных процессов у этой категории лимфоцитов [25] при этом иным механизмом, чем у остальных Т-клеток, как это показал корреляционный анализ. Активационные процессы CD8+ ЦТЛ связаны не с экспрессией маркера CD25 (одной из цепей рецептора к Т-клеточному ростовому фактору ИЛ-2), а с экспрессией активирующих молекул NKG2D (CD314), лигандом для которых служат стресс-индуцированные белки (MICA, MICB) клеток-мишеней [26]. Можно предположить, что в условиях системного воспаления и сопутствующего ему стресса на клеточном уровне начинают преобладать стресс-индуцированные реакции Т-клеточного цитолиза, направленного против инфицированных клеток эндотелия.

Однако несмотря на выраженность описанных механизмов активации ЦТЛ общее число этих клеток в лихорадочный период ГЛПС, особенно при тяжелом течении заболевания, не возрастало, а наоборот, снижалось. Это можно объяснить нарастанием процессов миграции этих клеток из кровотока в основной орган-мишень вирусной агрессии при ГЛПС — почки, а также проявлением в кровотоке механизмов иммунной супрессии.

Дело в том, что рост числа активированных ЦТЛ может способствовать формированию индуцибельных CD8+ регуляторных Т-клеток [27]. На примере других вирусов была показана возможность прямого участия вирусных возбудителей в формировании иммунологической толерантности к ним с участием регуляторных Т-клеток [28]. Как бы то ни было, но, как показывают результаты данной работы, уже на ранних этапах ГЛПС возрастает роль регуляторных Т-клеток, в том числе CD8+. Можно предполагать, что этот феномен выполняет защитную роль и направлен на уменьшение повреждающего действия ЦТЛ на сосудистую стенку, что приобретает особое значение в случае тяжелого течения ГЛПС.

Все эти механизмы, находящиеся в сложных взаимодействиях друг с другом, не позволяют при попытке прогнозирования тяжелого течения ГЛПС на какой-то один показатель, а требуют интегрального подхода с учетом состояния одновременно многих субпопуляций лимфоцитов. Такой подход, осуществленный с использованием регрессионного анализа, позволил нам разработать новый иммунологический прогностический критерий (ИПК ГЛПС) на базе нескольких показателей фенотипирования лимфоцитов крови, позволяющий с высокой прогностической точностью предсказывать риск развития тяжелого течения ГЛПС.

Выводы

1. В процессе развития геморрагической лихорадки с почечным синдромом функциональная активность лимфоцитов различного фенотипа достоверно изменяется в зависимости от стадии инфекционного процесса.

2. В дебюте заболевания (лихорадочный период) наиболее значимые сдвиги наблюдаются со стороны клеток адаптивного иммунного ответа, при этом характер изменения численного состава Т-хелперов (CD3+CD4+), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3+CD8+), в том числе активированных с участием стресс-индуцибельных молекул (CD3+CD8+CD314+), CD8+ регуляторных Т-клеток зависел от тяжести течения ГЛПС.

3. Для тяжелого течения ГЛПС были характерны: рост числа Т-хелперов, падение числа ЦТЛ, в том числе активированных, рост числа регуляторных Т-клеток с фенотипом CD8+.

4. Анализ корреляционных связей показал различие в активационных процессах у Т-хелперов (через экспрессию CD25) и у цитотоксических Т-лимфоцитов (через экспрессию CD314), а также направленность супрессорного действия CD8+ регуляторных Т-клеток на субпопуляцию ЦТЛ.

5. Разработка прогностических критериев риска тяжелого течения ГЛПС на основе иммунологических данных должна учитывать многофакторность иммунного процесса и носить интегральный характер.

6. Полученный с помощью регрессионного анализа иммунологический прогностический коэффициент (ИПК ГЛПС) позволяет с высокой прогностической точностью определять риск тяжелого течения ГЛПС в лихорадочный период (на 2—5-й день от появления клинических симптомов).

Библиографический список

1. Валишин Д.А., Мурзабаева Р.Т., Галимов Р.Р., Шестакова И.В. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом у взрослых: клинические рекомендации. Москва: Некоммерческое партнерство «Национальное научное общество инфекционистов». 2014.
2. Conner S.D., Schmid S.L. Regulated portals of entry into the cells. *Nature*. 2003. Vol. 422. N6927. P. 37—44. doi: 10.1038/nature01451
3. Guterres A., de Oliveira C.R., Fernandes J., de Lemos R.S.E. The mystery of the phylogeographic structural pattern in rodent-borne hantaviruses. *Phylogenetics and Molecular Evolution*. 2019. Vol. 146. P. 35—43. doi: 10.1016/j.ympev.2019.03.020
4. Хунафина Д.Х., Галиева А.Т., Шайхуллина Л.Р. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом. Современная эпидемиология. Медицинский альманах. 2009. № 2. С. 154—156.
5. Митрофанова Н.Н., Мельников В.Л., Золина Н.Ф., Скороходова Е.Д. Анализ клинико-эпидемиологических и эпизоотических особенностей заболеваемости геморрагической лихорадкой с почечным синдромом на территории Пензенской области. Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. 2009. № 3 (11). С. 109—116.
6. Алехин Е.К., Камилев Ф.Х., Хунафина Д.Х. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом. Медицинский вестник Башкортостана. 2013. № 5. С. 24—31.
7. Морозов В.Г., Ишмухаметов А.А., Дзагурова Т.К., Ткаченко Е.А. Клинические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом в России. *Инфекционные болезни*. 2017. № 5. С. 156—161.
8. Jonsson C.B., Figueiredo L.T., Vapalahti O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clinical Microbiology Reviews*. 2010. Vol. 23. P. 412—441. doi: 10.1128/CMR.00062—09
9. Goeijenbier M., Wagenaar J., Goris M., Martina B. Rodent-borne hemorrhagic fevers: under-recognized, widely spread and preventable — epidemiology, diagnostics and treatment. *Critical Reviews in Microbiology*. 2013. Vol. 39, N1. P. 26—42. doi: 10.3109/1040841X.2012.686481
10. Pensiero M.N., Sharefkin J.B., Dieffenbach C.W., Hay J. Hantaan virus infection of human endothelial cells. *Journal of Virology*. 1992. Vol. 66. N10. P. 5929—5936. doi: 10.1128/jvi.66.10.5929—5936.1992
11. Krautkramer E., Grouls S., Stein N., Reiser J., Zeiler M. Pathogenic oldworld hantaviruses infect renal glomerular and tubular cells and induce disassembling of cell-to-cell contacts. *Journal of Virology*. 2011. Vol. 85. N 19. P. 9811—9823. doi:10.1128/JVI.00568—11

12. Manigold T., Vial P. Human hantavirus infections: epidemiology, clinical features, pathogenesis and immunology. *Schweizerische medizinische Wochenschrift*. 2014. Vol. 144. P. 13937—13955. doi: 10.4414/sm.w.2014.13937
13. Jiang H., Du H., Wang L.M., Wang P.Z. Hemorrhagic fever with renal syndrome: pathogenesis and clinical picture. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2016. Vol. 6. P. 1—14. doi: 10.3389/fcimb.2016.0000
14. Gorbunova, E.E., Gavrilovskaya I.N., Pepini T., Mackow E.R. VEGFR2 and Src kinase inhibitors suppress Andes Virus-induced endothelial cell permeability. *Journal of Virology*. 2011. Vol. 85. N 5. P. 2296—2303. doi: 10.1128/JVI.02319—10
15. Yu Z., Zhou N., Li A., Chen J., Chen H., He C., et al. Performance assessment of the SAPS II and SOFA scoring systems in Hanta virus Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. *International Journal of Infectious Diseases*. 2017. Vol. 63. P. 88—94. doi: 10.1016/j.ijid.2017.08.003
16. Murphy K., Travers P., Walport M., editors. *Janeway's Immunobiology*. 7nd ed. New York: Garland Science, 2011.
17. Zhou X., Obuchowski N., McClish D. *Statistical Methods in Diagnostic Medicine*. New York: John Wiley & Sons, 2002.
18. Ярулин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.
19. Rouse B.T., Sehrawat S. Immunity and immunopathology to viruses: what decides the outcome? *Nature Reviews Immunology*. 2010. Vol. 10. N 7. P. 514—526. doi: 10.1938/nri2802
20. Terajima M., Ennis F.A. T cells and pathogenesis of hantavirus cardiopulmonary syndrome and hemorrhagic fever renal syndrome. *Viruses*. 2011. Vol. 3. N 7. P. 1059—1073. doi: 10.3390/v3071059
21. Lindgren T., Ahlm C., Mohamed N., Evander N., Ljunggren H.-G., Bjorkstrom N.K. Longitudinal analysis of the human T cell response during acute hantavirus infection. *Journal of Virology*. 2011. Vol. 85. N 19. P. 10252—10260. doi: 10.1128/JVI.05548—11
22. Xie M., Dong Y., Zhou Y., Ren X. Levels of HTNV-specific CD8+T lymphocytes in PBMC from the patients with hemorrhagic fever with renal syndrome. *Internal and Emergency Medicine*. 2013. Vol. 8. N 6. P. 503—508. doi: 10.1007/s11739—011—0633—4
23. Mustonen J., Helin H., Pietila K., Brummer-Korvenkontio M., Hedman K., Vaheri A. et al. Renal biopsy findings and clinicopathologic correlations in nephropathia epidemica. *Clinical Nephrology*. 1994. Vol. 41. N 3. P. 121—126.
24. Shimizu K., Yoshimatsu K., Taruishi M., Tsuda Y., Arikawa J. Involvement of CD8+ T cells in the development of renal hemorrhage in a mouse model of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Archives of Virology*. 2018. Vol. 163. N 6. P. 1577—1584. doi: 10.1007/s00705—018—3786-x
25. Walsh K.B., Lanier L.L., Lane T.E. NKG2Dreceptor signaling enhances cytolytic activity by virus-specific CD8+ T cells: evidence for a protective role in virus-induced encephalitis. *Journal of Virology*. 2008. Vol. 82. N 6. P. 3031—3044. doi: 10.1128/JVI.02033—07
26. Сепиашвили Р.И., Балмасова И.П. Естественные киллеры и их рецепторы, специфичные к МНС—I. *Иммунология*. 2007. Т. 27. № 1. С. 46—51.
27. Lee H.M., Bautista J.L., Hsieh C.S. Thymic and peripheral differentiation of regulatory T cells. *Advances of Immunology*. 2011. Vol. 112. P. 25—71. doi: 10.1016/B978—0—12—387827—4.00002—4
28. Gernoux G., Wilson J.M., Mueller C. Regulatory and Exhausted T Cell Responses to AAV Capsid. *Human Gene Therapy*. 2017. Vol. 28. N4. P. 338—349. doi: 10.1089/hum.2017.022

References

1. Valishin D.A., Murzabayeva R.T., Galimov R.R., Shestakova I.V. Hemorrhagic fever with renal syndrome in adults: clinical recommendations. Moscow: The non-profit partnership “National Scientific Society of Infectious Disease”; 2014. (in Russ).
2. Conner SD, Schmid SL. Regulated portals of entry into the cells. *Nature*. 2003;422(6927):37—44. doi: 10.1038/nature01451
3. Guterres A., de Oliveira C.R., Fernandes J., de Lemos R.S.E. The mystery of the phylogeographic structural pattern in rodent-borne hantaviruses. *Phylogenetics and Molecular Evolution*. 2019;146:35—43. doi: 10.1016/j.ympev.2019.03.020
4. Hunafina D.H., Galieva A.T, Shaykhullin A.R. Hemorrhagic fever with renal syndrome. *Modern Epidemiology. Medical Almanac*. 2009;(2):154—156. (In Russ).
5. Mitrofanova N.N., Melnikov V.L., Zolina N.F., Skorokhodova E.D. Analysis of clinical and epidemiological and epizootic features of the incidence of hemorrhagic fever with renal syndrome in the Penza region. *Izvestia of higher education institutions. Volga region. Medical science*. 2009;3(11):109—116. (in Russ).
6. Alekhin E.K., Kamilov F.H, Hunifina D.H. Hemorrhagic fever with renal syndrome. *Bashkortostan Medical Gazette*. 2013;(5):24—31. (in Russ).
7. Morozov V.G., Ishmukhametov A.A., Dzagurova T.K., Tkachenko E.A. Clinical features of hemorrhagic fever with renal syndrome in Russia. *Infectious diseases*. 2017;(5):156—161. (in Russ).
8. Jonsson C.B., Figueiredo L.T., Vapalahti O. A global perspective on hantavirus ecology, epidemiology, and disease. *Clinical Microbiology Reviews*. 2010;23:412—441. doi: 10.1128/CMR.00062—09
9. Goeijenbier M., Wagenaar J., Goris M., Martina B. Rodent-borne hemorrhagic fevers: under-recognized, widely spread and preventable — epidemiology, diagnostics and treatment. *Critical Reviews in Microbiology*. 2013;39(1):26—42. doi: 10.3109/1040841X.2012.686481
10. Pensiero M.N., Sharefkin J.B., Dieffenbach C.W., Hay J. Hantaan virus infection of human endothelial cells. *Journal of Virology*. 1992;66(10):5929—5936. doi: 10.1128/jvi.66.10.5929—5936.1992
11. Krautkramer E., Grouls S., Stein N., Reiser J., Zeiler M. Pathogenic old world hantaviruses infect renal glomerular and tubular cells and induce disassembling of cell-to-cell contacts. *Journal of Virology*. 2011;85(19):9811—9823. doi:10.1128/JVI.00568—11
12. Manigold T., Vial P. Human hantavirus infections: epidemiology, clinical features, pathogenesis and immunology. *Schweizerische medizinische Wochenschrift*. 2014;144:13937—13955. doi: 10.4414/sm.w.2014.13937
13. Jiang H., Du H., Wang L.M., Wang P.Z. Hemorrhagic fever with renal syndrome: pathogenesis and clinical picture. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2016;6:1—14. doi: 10.3389/fcimb.2016.0000

14. Gorbunova, E.E., Gavrilovskaya I.N., Pepini T., Mackow E.R. VEGFR2 and Src kinase inhibitors suppress Andes Virus-induced endothelial cell permeability. *Journal of Virology*. 2011;85(5):2296—2303. doi: 10.1128/JVI.02319—10
15. Yu Z., Zhou N., Li A., Chen J., Chen H., He C., et al. Performance assessment of the SAPS II and SOFA scoring systems in Hanta virus Hemorrhagic Fever with Renal Syndrome. *International Journal of Infectious Diseases*. 2017;63:88—94. doi: 10.1016/j.ijid.2017.08.003
16. Murphy K., Travers P., Walport M., editors. Janeway's Immunobiology. 7nd ed. New York: Garland Science, 2011.
17. Zhou X., Obuchowski N., McClish D. *Statistical Methods in Diagnostic Medicine*. New York: John Wiley & Sons, 2002.
18. Yarin A.A. *Immunology*. Moscow: GEOTAR Media. 2910. (in Russ).
19. Rouse B.T., Sehrawat S. Immunity and immunopathology to viruses: what decides the outcome? *Nature Reviews Immunology*. 2010;10(7):514—526. doi: 10.1038/nri2802
20. Terajima M., Ennis F.A. T cells and pathogenesis of hantavirus cardiopulmonary syndrome and hemorrhagic fever renal syndrome. *Viruses*. 2011;3(7):1059—1073. doi: 10.3390/v3071059
21. Lindgren T., Ahlm C., Mohamed N., Evander N., Ljunggren H-G., Bjorkstrom N.K. Longitudinal analysis of the human T cell response during acute hantavirus infection. *Journal of Virology*. 2011;85(19):10252—10260. doi: 10.1128/JVI.05548—11
22. Xie M., Dong Y., Zhou Y., Ren X. Levels of HTNV-specific CD8+T lymphocytes in PBMC from the patients with hemorrhagic fever with renal syndrome. *Internal and Emergency Medicine*. 2013;8(6):503—508. doi: 10.1007/s11739—011—0633—4
23. Mustonen J., Helin H., Pietila K., Brummer-Korvenkontio M., Hedman K., Vaheri A., et al. Renal biopsy findings and clinicopathologic correlations in nephropathia epidemica. *Clinical Nephrology*. 1994;41(3):121—126.
24. Shimizu K., Yoshimatsu K., Taruishi M., Tsuda Y., Arikawa J. Involvement of CD8+ T cells in the development of renal hemorrhage in a mouse model of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Archives of Virology*. 2018;163(6):1577—1584. doi: 10.1007/s00705—018—3786-x
25. Walsh K.B., Lanier L.L., Lane T.E. NKG2D receptor signaling enhances cytolytic activity by virus-specific CD8+ T cells: evidence for a protective role in virus-induced encephalitis. *Journal of Virology*. 2008;82(6):3031—3044. doi: 10.1128/JVI.02033—07
26. Sepiashvili R.I., Balmasova I.P. Natural killer cells and their receptors specific to MHC—I. *Immunology*. 2007;27(1):46—51. (in Russ).
27. Lee H.M., Bautista J.L., Hsieh C.S. Thymic and peripheral differentiation of regulatory T cells. *Advances of Immunology*. 2011;112:25—71. doi: 10.1016/B978—0—12—387827—4.00002—4
28. Gernoux G., Wilson J.M., Mueller C. Regulatory and Exhausted T Cell Responses to AAV Capsid. *Human Gene Therapy*. 2017;28(4):338—349. doi: 10.1089/hum.2017.022

Ответственный за переписку: Балмасова Ирина Петровна — д.м.н., профессор, зав. лабораторией патогенеза и методов лечения инфекционных заболеваний НИМСИ ФГБОУ ВО Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова, 105275, 8-я ул. Соколиной Горы, д. 15, г. Москва, Россия. E-mail: iri.balm@mail.ru

Балмасова И.П. SPIN: 8025—8611; ORCID: 0000—0001—8194—2419

Иванов М.Ф. SPIN: 2195—3768; ORCID: 0000—0002—2528—0091

Жестков А.В. SPIN: 2765—9617; ORCID: 0000—0002—3960—830X

Corresponding author: Balmasova Irina — MD., Professor, Head of the laboratory of pathogenesis and methods of treatment of infectious diseases of A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine & Dentistry, 105275, 8th Street of Sokolinaya Gora, 15, Moscow, Russia. E-mail: iri.balm@mail.ru

Balmasova I.P. ORCID: 0000—0001—8194—2419

Ivanov M.F. ORCID: 0000—0002—2528—0091

Zhestkov A.V. ORCID: 0000—0002—3960—830X