



DOI: 10.22363/2313-0245-2024-28-1-265-281

EDN: ZRPYXI

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ORIGINAL RESEARCH

Иммунопатогенетические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом как критерии ранней иммунодиагностики

М.Ф. Иванов¹  , И.П. Балмасова² , Е.С. Малова³ , Д.Ю. Константинов¹ ¹ Самарский государственный медицинский университет, г. Самара, Российская Федерация² Российский университет медицины, г. Москва, Российская Федерация³ Медицинский университет «Реавиз», г. Самара, Российская Федерация m.f.ivanov@samsmu.ru

Аннотация. *Актуальность.* Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) — природно-очаговая вирусная инфекция с высокой вероятностью тяжелого течения, возможностью летального исхода, длительностью периода восстановления после инфекции, низкой эффективностью терапии и вакцинопрофилактики. На территории Российской Федерации ГЛПС чаще всего вызывается ортохантавирусом Пуумала. *Цель исследования.* Оценка иммунофенотипического состава лимфоцитов и цитокинового профиля в крови пациентов с геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в сравнении с острыми респираторными вирусными инфекциями и с перспективой разработки иммунологических критериев для ранней диагностики ГЛПС. *Материалы и методы.* Исследованию подвергалась кровь 24 пациентов с верифицированным диагнозом ГЛПС, находившихся на стационарном лечении в инфекционном отделении клиник Самарского медицинского университета и поступивших в первые дни заболевания, 18 пациентов с ОРВИ установленной этиологии, а также 15 здоровых людей. *Результаты и обсуждение.* Анализ результатов фенотипирования лимфоцитов и уровня цитокинов в крови позволил установить, что процентное содержание в крови В-лимфоцитов >12,6 %, цитотоксических CD8⁺ Т-лимфоцитов, экспрессирующих активирующий лектиновый рецептор NKG2D (CD3⁺CD8⁺CD314⁺), >25 %, регуляторных Т-клеток с фенотипами CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺ >7,8 % и CD3⁺CD8⁺FoxP3⁺ >9,5 %, а также ИЛ-6 >24 пг/мл, ФНОβ >55 пг/мл, ИЛ-10 <11,3 пг/мл с высокой диагностической значимостью, судя по результатам ROC-анализа, свидетельствует в пользу ГЛПС, но не ОРВИ. Сопоставление результатов исследования с данными литературы подтвердило оригинальность полученных данных по фенотипированию лимфоцитов и позволило развить гипотезу об иммунопатогенетическом значении наблюдаемых отклонений как неизвестном ранее механизме формирования CD8⁺ иммунологической памяти. *Выводы.* Полученные результаты могут использоваться в качестве критериев

© Иванов М.Ф., Балмасова И.П., Малова Е.С., Константинов Д.Ю., 2024

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

ранней иммунодиагностики ГЛПС. Развитие новой гипотезы по механизму формирования CD8⁺ иммунологической памяти может способствовать раскрытию новых потенциальных мишеней для иммунотерапии ГЛПС и созданию новых принципов получения вакцинных препаратов с целью профилактики этого заболевания.

Ключевые слова: геморрагическая лихорадка с почечным синдромом, иммунопатогенез, ранняя иммунодиагностика, иммунофенотипы лимфоцитов, цитокины

Информация о финансировании. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования.

Вклад авторов. Иванов М.Ф. — анализ полученных данных, написание текста; Балмасова И.П. — концепция и дизайн исследования; Малова Е.С. — анализ полученных данных, подготовка иллюстративного материала; Константинов Д.Ю. — сбор, обработка и анализ материалов. Все авторы внесли значительный вклад в разработку концепции, исследования и подготовку рукописи, прочитали и утвердили окончательную версию перед публикацией.

Информация о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое утверждение. Протокол исследования утвержден этическим комитетом Самарского государственного медицинского университета.

Благодарности — неприменимо.

Информированное согласие на публикацию. Перед началом исследования все участники исследования дали добровольное письменное информированное согласие на участие в исследовании и обработку персональных данных согласно Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013).

Поступила 03.02.2024. Принята 07.03.2024.

Для цитирования: Иванов М.Ф., Балмасова И.П., Малова Е.С., Константинов Д.Ю. Иммунопатогенетические особенности геморрагической лихорадки с почечным синдромом как критерии ранней иммунодиагностики // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2024. Т. 28. № 2. С. 265–281. doi: 10.22363/2313–0245–2024–28–2–265–281

Immunopathogenic features of hemorrhagic fever with renal syndrome as criteria for early immunodiagnostics

Michail F. Ivanov¹  , Irina P. Balmasova² , Elena S. Malova³ , Dmitriy Yu. Konstantinov¹ 

¹ Samara State Medical University, Samara, Russian Federation

² Russian University of Medicine, Moscow, Russian Federation

³ Reaviz Medical University, Samara, Russian Federation

*m.f.ivanov@samsmu.ru

Abstract. Relevance. Hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) is a natural focal viral infection with a high probability of severe course, the possibility of death, a long recovery period after infection, low effectiveness of therapy and vaccine prevention. In the Russian Federation, HFRS is most often caused by the Puumala orthohantavirus. *The aim of the study* — to evaluate the immunophenotypic composition of lymphocytes and cytokine profile in the blood of patients with hemorrhagic fever

with renal syndrome in comparison with acute respiratory viral infections and with the prospect of developing immunological criteria for early diagnosis of HFRS. *Materials and Methods*. There were examined the blood of 24 patients with a verified diagnosis of HFRS who were hospitalized in the infectious diseases department of the Samara Medical University Clinics and admitted in the first days of the disease, 18 patients with acute respiratory viral infections of established etiology, as well as 15 healthy people. *Results and Discussion*. Analysis of the results of lymphocyte phenotyping and cytokine levels in the blood revealed that the percentage of B lymphocytes in the blood was >12.6 %, cytotoxic CD8⁺ T lymphocytes expressing the activating lectin receptor NKG2D (CD3⁺CD8⁺CD314⁺), >25 %, regulatory T cells with CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺ phenotypes >7.8 % and CD3⁺CD8⁺FoxP3⁺ >9.5 %, as well as IL-6 >24 pg/ml, TNF β >55 pg/ml, IL-10 <11.3 pg/ml with high diagnostic significance, judging by the results of ROC analysis, indicates in favor of GLPS, but not ARVI. *Conclusion*. The results obtained can be used as criteria for early immunodiagnosis of HFRS. The development of a new hypothesis on the mechanism of CD8⁺ immunological memory formation may contribute to the discovery of new potential targets for HFRS immunotherapy and the creation of new principles for the production of vaccine preparations for the prevention of this disease.

Keywords: hemorrhagic fever with renal syndrome, immunopathogenesis, early immunodiagnostics, immunophenotypes of lymphocytes, cytokines

Funding. The authors state that there was no external funding.

Author contributions. Ivanov M.F. — analysis of the obtained data, writing the text; Balmasova I.P. — concept and design of the study; Malova E.S. — analysis of the data obtained, preparation of illustrative material; Konstantinov D. Yu. — collection, processing and analysis of the materials. All authors have made significant contributions to the concept, research, and manuscript preparation, and have read and approved the final version prior to publication.

Conflicts of interest statement. The authors declare that there is no conflict of interest.

Ethics approval. The protocol of the study was approved by the Ethics Committee of Samara State Medical University.

Acknowledgements — not applicable.

Consent for publication. Before starting the study, all participants provided voluntary informed consent to participate in the study in accordance with the Declaration of Helsinki of the World Medical Association (WMA Declaration of Helsinki — Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects, 2013), the processing of personal data and consent to publication.

Received 03.02.2024 Accepted 07.03.2024.

For citation: Ivanov MF, Balmasova IP, Malova ES, Konstantinov DYu. Immunopathogenic features of hemorrhagic fever with renal syndrome as criteria for early immunodiagnostics. *RUDN Journal of Medicine*. *RUDN Journal of Medicine*. 2024;28(2):265–281. doi: 10.22363/2313–0245–2024–28–2–265–281

Введение

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) — острое вирусное заболевание природно-очагового характера, сопровождающееся развитием лихорадочного, геморрагического синдромов, гемодинамическими нарушениями, а также острым повреждением почек [1]. Возбудители ГЛПС относятся к роду ортохантавирусов, более 28 видов которых причастны к этиологии данной инфекции у человека [2]. Среди них — *Orthohantavirus puumalaense* (ортохантавирус Пуумала), который играет основную роль в структуре

заболеваемости ГЛПС в России и на долю которого приходится 97,7 % случаев этого заболевания [3]. Внимание современных исследователей к ГЛПС обусловлено высокой вероятностью тяжелого течения и возможностью летального исхода заболевания, его природноочаговым характером, затрудняющим эпидемиологическую борьбу с ним, длительностью периода восстановления после инфекции, отсутствием этиотропной терапии, низкой эффективностью вакцинопрофилактики, тенденцией к использованию ортохантавирусов в качестве биологического оружия [3–6].

Источником геморрагической лихорадки с почечным синдромом, вызываемой *Orthohantavirus puumalaense*, для человека чаще всего являются грызуны [7], передача возбудителя человеку обычно происходит при вдыхании пыли, содержащей контаминированные вирусом экскременты грызунов [8]. От человека к человеку эта вирусная инфекция не передается, а начальным местом репликации ортохантавируса являются дыхательные пути [3, 9]. ГЛПС имеет циклическое течение и включает несколько клинических периодов: лихорадочный с преобладанием явлений цитокинового шторма, нарушений гемодинамики и геморрагического синдрома продолжительностью от 3-х до 7 дней, олигоурический, протекающий на фоне острого повреждения почек и выраженной олигоурии (6–12 дней), полиурический период, проявляющийся переходом от олигоурии к полиурии (6–14 дней), реконвалесценции продолжительностью до 2-х месяцев и более [5, 8]. В патогенезе заболевания подчеркивается ведущая роль иммунной системы, что связано с очень широким спектром клеточных мишеней для ортохантавирусов, в число которых входят, наряду с эндотелиальными, эпителиальными клетками и тромбоцитами, макрофаги, дендритные клетки, лимфоциты, нейтрофилы, имеющие непосредственное отношение к развитию иммунного ответа [9].

Давая характеристику особенностям иммунных процессов при ГЛПС, авторы одного из обзоров подчеркивают особое значение в иммунопатогенезе этого заболевания, вызванного ортохантавирусом Пуумала, таких лимфоцитов как натуральные киллеры и $CD8^+$ цитотоксические лимфоциты. Отмечается значение для выздоровления при ГЛПС формирования $CD8^+$ Т-клеточной памяти, детали механизмов развития которой авторы оценивают как неизвестные. Указывается на значение регуляторных клеток, в том числе $CD4^+$, хотя авторы отмечают, что их значительный рост при данном заболевании не зарегистрирован [10]. При этом одним из существенных недостатков в исследовании иммунного статуса при ГЛПС, на наш взгляд, является игнорирование постадийного течения этого заболевания со сменой ведущих патогенетических механизмов,

что требует обязательного учета этого обстоятельства в виде дифференцированного подхода к оценке иммунопатогенеза на разных этапах ГЛПС.

Существуют и другие проблемы, требующие учета специфики заболевания. Несмотря на то, что в диагностике этой инфекции используют полимеразную цепную реакцию (ПЦР), а также методы серодиагностики (реакция непрямой иммунофлуоресценции или непрямой иммуноферментный анализ), возникает проблема ранней диагностики ГЛПС из-за отсутствия цитопатического эффекта и довольно медленного цикла репликации ортохантавируса Пуумала, что приводит к поздней виремии на 5–10 день после заражения [8, 11] и, следовательно, низкой информативности ПЦР в первые дни заболевания, в то время как диагностически значимая сероконверсия наступает примерно после 5-го дня от начала клинических проявлений [12].

В наших предыдущих публикациях было показано, что уже на ранних этапах ГЛПС возникает целый ряд довольно характерных сдвигов со стороны иммунного статуса, в частности, высокий уровень экспрессии цитотоксическими Т-лимфоцитами ($CD8^+$) лектиновых рецепторов С-типа $NKG2D$, а также довольно значительная и нехарактерная для большинства острых инфекций доля $CD4^+$ и $CD8^+$ регуляторных Т-клеток среди лимфоцитов крови [13]. Взаимосвязь этих сдвигов (практически не изученных при инфекционных процессах) именно с ортохантавирусной инфекцией нуждается в дополнительных доказательствах, по крайней мере, требует сравнения с другими вирусными инфекциями желательного с тем же (респираторным) механизмом передачи.

В соответствии с этими сведениями целью исследования является оценка иммунофенотипического состава лимфоцитов и цитокинового профиля в крови пациентов с геморрагической лихорадкой с почечным синдромом в сравнении с острыми респираторными вирусными инфекциями и с перспективой разработки иммунологических критериев для ранней диагностики ГЛПС.

Материалы и методы

Нами наблюдались пациенты с верифицированным диагнозом геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) среднетяжелого и тяжелого течения, которые проходили лечение в Инфекционном отделении № 1 Клиник Самарского государственного медицинского университета с 2017 по 2022 годы. 24 пациента поступили в стационар на 2–4-й день болезни, то есть находились под наблюдением начиная с лихорадочного периода ГЛПС, они составили основную группу исследования.

Пациенты группы сравнения № 1 на первой неделе заболевания находились в том же стационаре и включали 18 человек, поступивших с подозрением на ГЛПС в период сезонного роста встречаемости этого заболевания (осенне-зимний период). У 7 человек впоследствии методом ПЦР была диагностирована аденовирусная инфекция, у 5 человек — грипп, у 4 больных — риновирусная инфекция, у 2 пациентов — респираторно-синцитиальная вирусная инфекция. Основанием для включения этих больных в группу сравнения послужила вирусная природа заболевания при аэрогенном пути заражения (ОРВИ), а также наличие клинических и лабораторных признаков лихорадочного и общетоксического инфекционного синдрома среднетяжелого и тяжелого течения, что и определяло возможность их сопоставления с ГЛПС.

Группа сравнения № 2 состояла из 15 клинически здоровых доноров крови Самарской областной клинической станции переливания крови.

От всех обследованных лиц получено информированное согласие на участие в исследовании, а программа исследований одобрена на заседании этического комитета Самарского государственного медицинского университета (протокол № 204 от 11.12.2019).

Все три группы примерно соответствовали друг другу по полу и возрасту. Во всех группах преобладали женщины, на их долю в основной группе приходилось 62,5 %, в группе сравнения № 1 — 67 %, в группе сравнения № 2 — 60 %, а средний возраст составлял соответственно $42,2 \pm 12,1$ лет, $43,4 \pm 11,2$ лет, $40,6 \pm 14,9$ лет.

У всех пациентов, вошедших в исследование, осуществлялось фенотипирование лимфоцитов на 2–5-й день от начала заболевания, а в группе сравнения № 2 — по мере обращения. Фенотипическое исследование лимфоцитов проводилось методом проточной цитофлуориметрии с использованием цитофлуориметра BD FACSCanto II (Becton Dickinson, США) после автоматизированной пробоподготовки цельной крови с помощью станции автоматической пробоподготовки BD FACS Sample Prep Assistant II (Becton Dickinson, США) в соответствии с инструкцией по применению приборов и моноклональных антител.

Было проведено изучение абсолютного и относительного числа клеток среди лимфоцитов (CD45⁺) крови следующих фенотипов: CD19⁺ (В-лимфоциты); CD3⁺ (Т-лимфоциты); CD3⁺CD4⁺ (Т-хелперы); CD3⁺CD8⁺ (цитотоксические Т-лимфоциты, или ЦТЛ); CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺ (CD4⁺ регуляторные Т-клетки); CD3⁺CD8⁺FoxP3⁺ (CD8⁺ регуляторные Т-клетки); CD3⁺CD56⁺ (НКТ-подобные клетки); CD3-CD16⁺CD56⁺ (натуральные киллеры, или НК); CD3⁺CD25⁺ (Т-лимфоциты, экспрессирующие рецептор активации CD25); CD3⁺CD8⁺CD314⁺ (ЦТЛ, экспрессирующие рецептор активации NKG2D); CD16⁺CD56⁺CD314⁺ (НК, экспрессирующие рецептор активации NKG2D).

Для определения перечисленных показателей использовались меченные моноклональные антитела (МКАТ) производства BD Biosciences (США). Расчет абсолютных величин показателей проводился по формуле:

$$\text{Число клеток} = \frac{\% \text{ клеток от общего числа лимфоцитов} * \text{число лимфоцитов (109/л)}}{100 \%}$$

Так же проводилось исследование уровней интерлейкинов (ИЛ)-4, -1β, -6, -10, -12, факторов некроза опухолей α и β (ФНОα и ФНОβ), интерферона γ (ИФНγ) в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа с использованием планшетного фотометра «OPSYS MR» фирмы «THERMOLABSYSTEMS» (Финляндия) в соответствии с инструкцией по применению аппаратуры и комплектов соответствующих моноклональных антител производства Вектор Бест (Россия).

Статистическая обработка данных проводилась на основе пакета статистических программ SPSS (версия 23). Использовались методы дескриптивной и сравнительной непараметрической статистики, корреляционный анализ, рассчитывался 95 % доверительный интервал показателей. Соотношение чувствительности и специфичности тестов устанавливалось методом линейной регрессии с построением ROC-кривой и расчетом площади под кривой — AUC.

Результаты и обсуждение

Для реализации поставленной цели проводился анализ содержания в крови лимфоцитов всех намеченных фенотипов у 24 пациентов ГЛПС в лихорадочный период (первые 2–5 дней от начала заболевания) в сравнении с пациентами с острой респираторной вирусной инфекцией в этот же период от начала заболевания (18 человек).

Предварительное определение общего содержания лейкоцитов в крови больных ГЛПС и ОРВИ показало их статистически значимое ($p < 0,05$) превышение показателей у здоровых людей ($6,9 \pm 1,9 * 10^6$ клеток/л) при соответствии этих данных в обеих группах пациентов с вирусными инфекциями (соответственно $11,4 \pm 4,8 * 10^6$ клеток/л и $10,5 \pm 2,7 * 10^6$ клеток/л, $p = 0,697$). Определение процента лимфоцитов среди лейкоцитов крови выявило достоверное снижение этого показателя в группах ГЛПС ($16,4 \pm 5,2$ %) и ОРВИ ($18,9 \pm 8,1$ %) по сравнению с группой здоровых людей ($29,0 \pm 5,7$ %), в то время как между собой

данные по группам вирусных инфекций статистически значимо не различались ($p = 0,211$).

Эти данные позволили при выявлении фенотипических различий лимфоцитов по группам исследования ограничиться анализом только относительных, но не абсолютных величин. Результаты такого анализа представлены в таблице 1. Статистический анализ в связи с отсутствием нормального распределения данных осуществлялся методами непараметрической статистики с использованием критерия Манна-Уитни, различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Оценивая перечень наблюдаемых сдвигов со стороны фенотипического состава лимфоцитов при сравнении групп ГЛПС и ОРВИ, следует подчеркнуть, что среди этих сдвигов отчетливо преобладают не столько базовые показатели иммунограмм, сколько набор тех оригинальных фенотипов, что были введены нами для оценки фенотипического профиля лимфоцитов в данном исследовании.

Среди сдвигов со стороны фенотипов лимфоцитов, широко тестируемых в составе базовых иммунограмм и выявляющих достоверные различия между группами ГЛПС и ОРВИ, в данном исследовании следует отметить рост доли В-лимфоцитов в обеих группах вирусных инфекций, более выраженный при ГЛПС, а также максимальное нарастание процента натуральных киллеров при ОРВИ и менее значительный рост при ГЛПС, хотя сравнение по всем трем группам исследования носят статистически достоверный характер.

Таблица 1

Относительное содержание в крови лимфоцитов разных фенотипов на ранних этапах ГЛПС и в группах сравнения

Фенотипические показатели лимфоцитов (%)	Медиана (минимум; максимум)			P ₁ P ₂ P ₃
	Пациенты с ГЛПС, n = 24	Пациенты с ОРВИ, (группа сравнения 1) n = 18	Здоровые люди (группа сравнения 2) n = 15	
В-лимфоциты, CD19 ⁺	13,6 (5,0; 25,0)	11,3 (6,9; 17,4)	10,5 (2,5; 15,7)	0,039* 0,044* 0,046*
Т-лимфоциты, CD3 ⁺	68,0 (49,7; 87,0)	73,5 (52,0; 89,5)	75,0 (62,0; 87,0)	0,338 0,053 0,881

Окончание табл. 1

Фенотипические показатели лимфоцитов (%)	Медиана (минимум; максимум)			P ₁ P ₂ P ₃
	Пациенты с ГЛПС, n = 24	Пациенты с ОРВИ, (группа сравнения 1) n = 18	Здоровые люди (группа сравнения 2) n = 15	
Активированные Т-лимфоциты, CD3 ⁺ CD25 ⁺	4,8 (1,1; 27,0)	4,0 (1,6; 7,4)	7,5 (2,6; 7,8)	0,026* 0,164 0,707
Т-хелперы, CD3 ⁺ CD4 ⁺	36,8 (16,0; 67,0)	40,0 (20,5; 61,2)	41,0 (14,0; 57,0)	0,737 0,289 0,858
Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ), CD3 ⁺ CD8 ⁺	26,0 (10,4; 78,0)	28,3 (13,3; 37,5)	28,0 (16,0; 71,0)	0,950 0,754 0,929
NKG2D ⁺ ЦТЛ, CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD314 ⁺	30,6 (8,3; 58,9)	21,8 (10,2; 31,5)	12,6 (9,6; 27,0)	0,031* <0,001*** 0,003**
CD4 ⁺ регуляторные Т-клетки, CD3 ⁺ CD4 ⁺ FoxP3 ⁺	10,7 (4,9; 16,3)	7,7 (5,0; 18,0)	3,05 (2,3; 8,1)	0,034* <0,001*** 0,044*
CD8 ⁺ регуляторные Т-клетки, CD3 ⁺ CD8 ⁺ FoxP3 ⁺	13,0 (3,5; 23,9)	7,3 (6,2; 23,0)	0,45 (0,1; 4,4)	0,008** <0,001*** 0,001**
НКТ-подобные клетки, CD3 ⁺ CD56 ⁺	4,7 (1,5; 30,6)	5,0 (2,3; 20,0)	3,4 (2,3; 5,0)	0,231 0,169 0,233
Натуральные киллеры (НК), CD16 ⁺ CD56 ⁺	17,0 (7,7; 53,0)	21,5 (4,0; 34,4)	12,9 (9,5; 27,7)	0,022* 0,001** 0,049*
NKG2D ⁺ НК, CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD314 ⁺	6,7 (1,0; 16,3)	10,4 (1,0; 15,0)	9,6 (7,7; 21,6)	0,068 0,118 0,254

Примечание: n – количество человек в группе; p₁ – вероятность различий показателей в группах ГЛПС и здоровых людей; p₂ – вероятность различий показателей в группах ОРВИ и здоровых людей; p₃ – вероятность различий показателей в группах ГЛПС и ОРВИ; достоверность различий по критерию Манна-Уитни: * при p < 0,05, ** при p < 0,01, *** при p < 0,001.

Table 1

Relative blood abundance of different phenotypic lymphocytes in the early stages of HFRS and in comparison groups

Lymphocyte phenotypic parameters (%)	Median (minimum; maximum)			P ₁ P ₂ P ₃
	HFRS patients n = 24	ARVI patients (comparison group 1) n = 18	Healthy people (comparison group 2) n = 15	
B cells, CD19 ⁺	13.6 (5.0; 25.0)	11.3 (6.9; 17.4)	10.5 (2.5; 15.7)	0.039* 0.044* 0.046*
T cells, CD3 ⁺	68.0 (49.7; 87.0)	73.5 (52.0; 89.5)	75.0 (62.0; 87.0)	0.338 0.053 0.881
Activated T cells, CD3 ⁺ CD25 ⁺	4.8 (1.1; 27.0)	4.0 (1.6; 7.4)	7.5 (2.6; 7.8)	0.026* 0.164 0.707
T helper cells, CD3 ⁺ CD4 ⁺	36.8 (16.0; 67.0)	40.0 (20.5; 61.2)	41.0 (14.0; 57.0)	0.737 0.289 0.858
Cytotoxic T-lymphocytes (CTLs), CD3 ⁺ CD8 ⁺	26.0 (10.4; 78.0)	28.3 (13.3; 37.5)	28.0 (16.0; 71.0)	0.950 0.754 0.929

End of the table 1

Lymphocyte phenotypic parameters (%)	Median (minimum; maximum)			p ₁ p ₂ p ₃
	HFRS patients n = 24	ARVI patients (comparison group 1) n = 18	Healthy people (comparison group 2) n = 15	
NKG2D+ CTLs, CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD314 ⁺	30.6 (8.3; 58.9)	21.8 (10.2; 31.5)	12.6 (9.6; 27.0)	0.031* <0.001*** 0.003**
CD4 ⁺ regulatory T cells, CD3 ⁺ CD4 ⁺ FoxP3 ⁺	10.7 (4.9; 16.3)	7.7 (5.0; 18.0)	3.05 (2.3; 8.1)	0.034* <0.001*** 0.044*
CD8 ⁺ regulatory T cells, CD3 ⁺ CD8 ⁺ FoxP3 ⁺	13.0 (3.5; 23.9)	7.3 (6.2; 23.0)	0.45 (0.1; 4.4)	0.008** <0.001*** 0.001**
NKT-like cells, CD3 ⁺ CD56 ⁺	4.7 (1.5; 30.6)	5.0 (2.3; 20.0)	3.4 (2.3; 5.0)	0.231 0.169 0.233
Natural killer cells (NK), CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	17.0 (7.7; 53.0)	21.5 (4.0; 34.4)	12.9 (9.5; 27.7)	0.022* 0.001** 0.049*
NKG2D ⁺ NK, CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD314 ⁺	6.7 (1.0; 16.3)	10.4 (1.0; 15.0)	9.6 (7.7; 21.6)	0.068 0.118 0.254

Note: n – the number of persons in the group; p₁ – probability of differences in HFRS and healthy people groups; p₂ – probability of differences in ARVI and healthy people groups; p₃ – probability of differences in HFRS and ARVI groups; significance of Mann-Whitney differences: * at p<0.05, ** at p<0.01, *** at p < 0.001.

Для оценки критериального и прогностического значения выявленной категории сдвигов проводилось определение 95 %-х доверительных интервалов указанных показателей и построение ROC-кривых (рис. 1).

Как следует из рисунка 1, 95%-й доверительный интервал процентного содержания В-лимфоцитов в крови при величине выше 12,6 % свидетельствует о принадлежности пациента к группе геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Построение ROC-кривой показывает, что этот скрининговый тест имеет высокое прогностическое значение, поскольку площадь под ROC-кривой (AUC) составляет в данном случае 0,878, то есть выше 0,8, что в случае клинических исследований следует оценивать именно таким образом [14].

При тестировании натуральных киллеров ситуация иная. 95%-й доверительный интервал для ГЛПС занимает промежуточное положение между двумя группами сравнения (группой ОРВИ и группой клинически здоровых людей). В результате при построении ROC-кривой AUC составляет всего 0,454, то есть данный скрининговый тест прогностического значения вообще не имеет.

Что касается остальных показателей, использованных для оценки фенотипического профиля ГЛПС на самых ранних стадиях инфекционного процесса впервые, то к ним относились NKG2D⁺ цитотоксические Т-лимфоциты (CD3⁺CD8⁺CD314⁺) и регуляторные Т-клетки с фенотипами CD3⁺CD4⁺FoxP3⁺ и CD3⁺CD8⁺FoxP3⁺. Результаты анализа прогностического значения этих лимфоцитов представлены на рис. 2.

Графики показывают, что все три показателя обладают очень высокой прогностической значимостью, поскольку площадь под ROC-кривой (AUC) имела значения выше 0,8.

Например, относительное число цитотоксических Т-лимфоцитов, экспрессирующих активирующий лектиновый рецептор NKG2D, в крови при значениях выше 25 % с высокой прогностической значимостью (AUC = 0,863) и при наличии соответствующих клинических проявлений позволяло предположить наличие у пациента геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Аналогичное предположение позволяли сделать значения процентного содержания среди лимфоцитов крови CD4⁺ регуляторных Т-клеток выше 7,8 % (AUC = 0,963), а также CD8⁺ регуляторных Т-клеток выше 9,5 % (AUC = 0,899).

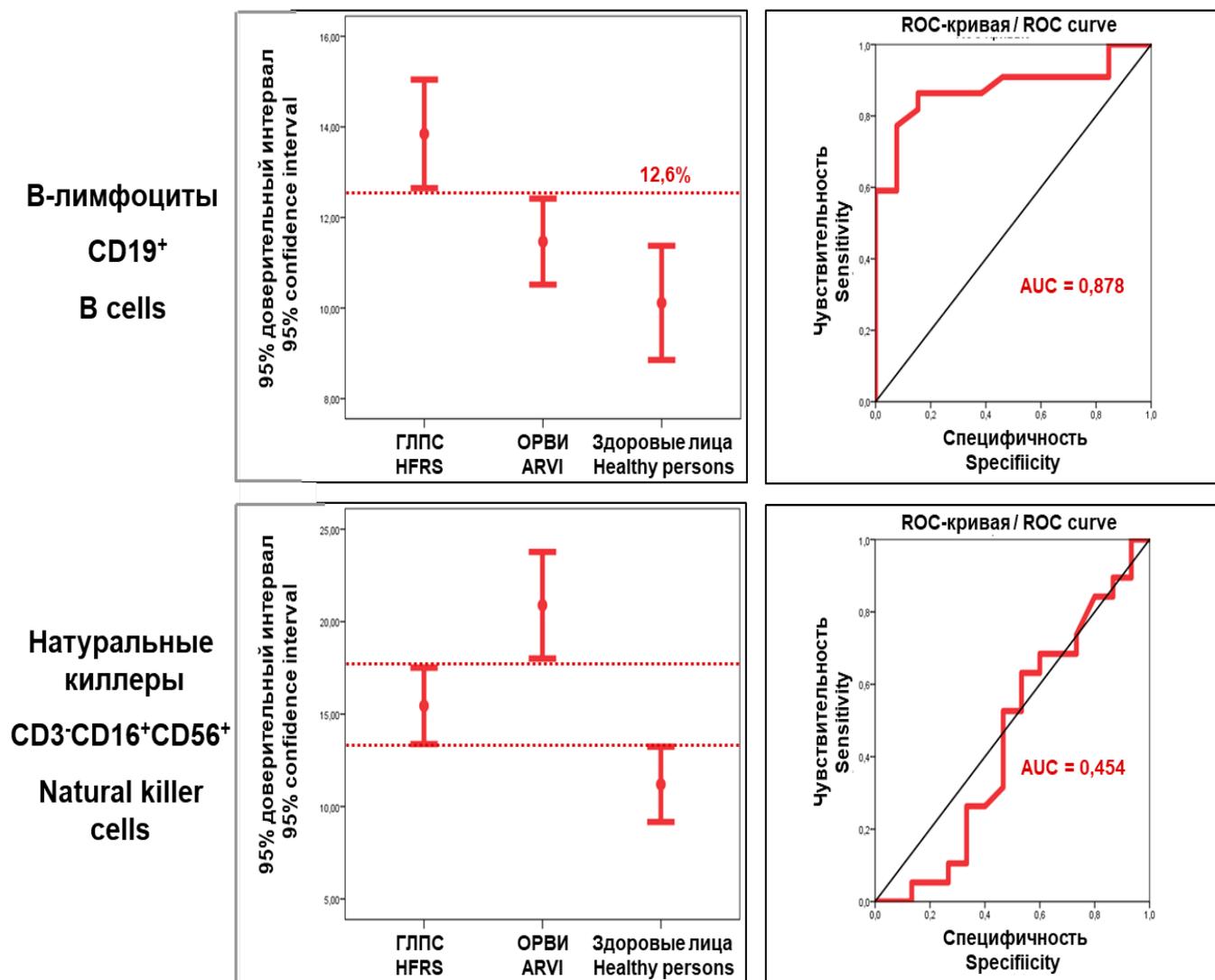


Рис. 1. 95 % доверительные интервалы процентов В-лимфоцитов и натуральных киллеров среди лимфоцитов крови в группах исследования и ROC-кривые их прогностического значения

Fig. 1. 95 % confidence intervals of B cell and natural killer cell percentages among blood lymphocytes in the study groups and ROC curves of their prognostic value

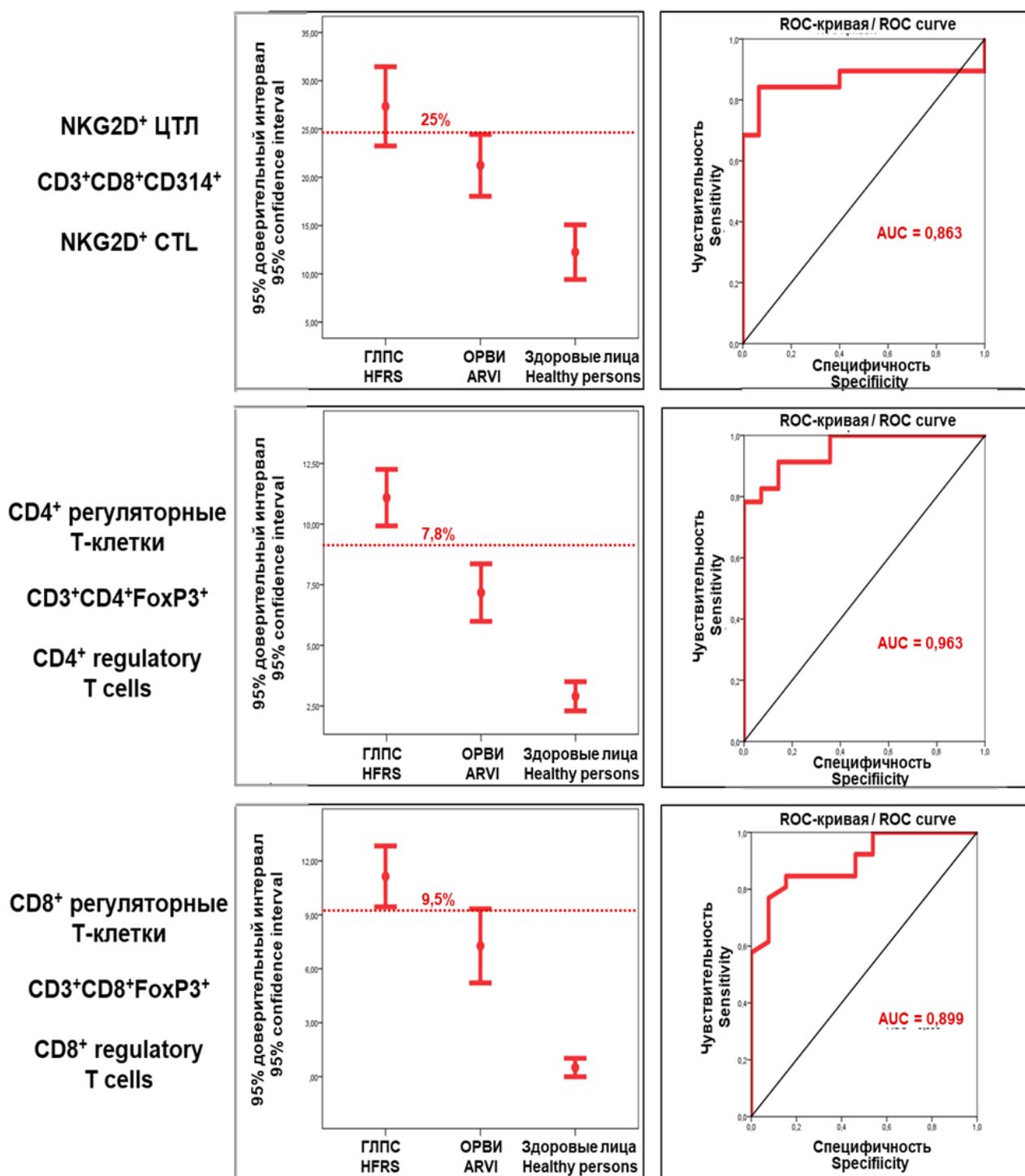


Рис. 2. 95 % доверительные интервалы процентов NKG2D⁺ ЦТЛ, CD4⁺ и CD8⁺ регуляторных Т-клеток среди лимфоцитов крови в группах исследования и ROC-кривые их прогностического значения

Fig. 2. 95 % confidence intervals of NKG2D⁺ CTL, CD4⁺ and CD8⁺ regulatory T cell percentages among blood lymphocytes in the study groups and ROC curves of their prognostic value

Для более точной расшифровки механизма участия названных клеток в патогенезе ранних стадий ГЛПС проводился анализ уровней цитокинов провоспалительного и противовоспалительного действия в первые 2–5 дней развития ГЛПС, результаты которого представлены в таблице 2.

Таблица 2

Уровни провоспалительных и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови на ранних этапах ГЛПС и в группах сравнения

Тестируемые цитокины (пг/мл)	Медиана (минимум; максимум)			p ₁ p ₂ p ₃
	Пациенты с ГЛПС n = 24	Пациенты с ОРВИ (группа сравнения 1) n = 18	Здоровые люди (группа сравнения 2) n = 15	
ИЛ-4	1,5 (1,5; 1,8)	2,0 (1,6; 2,8)	2,2 (1,3; 4,2)	0,002** 0,284 0,013*
ИЛ-12	12,1 (10,9; 13,7)	12,0 (9,5; 12,7)	9,1 (7,8; 14,4)	0,036* 0,041* 0,918
ИФН γ	86,5 (72,2; 101,0)	81,4 (76,1; 119,7)	40,8 (27,5; 51,5)	<0,001*** 0,004** 0,703
ИЛ-1 β	2,4 (2,0; 2,9)	2,6 (2,1; 3,0)	3,8 (2,50; 5,2)	0,003** 0,008** 0,237
ИЛ-6	25,9 (20,0; 32,3)	20,6 (16,2; 28,0)	6,2 (2,7; 9,2)	<0,001*** 0,003** 0,047*
ФНО α	3,0 (2,7; 3,9)	2,9 (2,60; 3,4)	2,0 (0,8; 2,8)	0,021* 0,043* 0,513
ФНО β	52,3 (48,0; 82,1)	48,4 (45,1; 55,6)	1,4 (0,6; 2,9)	<0,001*** <0,001*** 0,041*
ИЛ-10	14,8 (11,2; 40,5)	9,0 (7,5; 25,2)	6,8 (3,4; 9,1)	<0,001*** 0,005** 0,026*

Примечание: n – количество человек в группе; p₁ – вероятность различий показателей в группах ГЛПС и здоровых людей; p₂ – вероятность различий показателей в группах ОРВИ и здоровых людей; p₃ – вероятность различий показателей в группах ГЛПС и ОРВИ; достоверность различий по критерию Манна-Уитни: * при p < 0,05, ** при p < 0,01, *** при p < 0,001.

Как следует из таблицы 2, статистически достоверные сдвиги у пациентов с ГЛПС и с ОРВИ по сравнению с группой здоровых людей демонстрируют практически все тестируемые цитокины, кроме ИЛ-4 у больных ОРВИ. Однако различия между показателями в группах ГЛПС и ОРВИ отмечены только для 3 цитокинов — ИЛ-6, ФНО β , ИЛ-10.

Table 2

Serum levels of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in the early stages of HFRS and in comparison groups

Cytokines tested (pg/mL)	Median (minimum; maximum)			p ₁ p ₂ p ₃
	HFRS patients n = 24	ARVI patients (comparison group 1) n = 18	Healthy people (comparison group 2) n = 15	
IL-4	1,5 (1,5; 1,8)	2,0 (1,6; 2,8)	2,2 (1,3; 4,2)	0,002** 0,284 0,053
IL-12	12,1 (10,9; 13,7)	12,0 (9,5; 12,7)	9,1 (7,8; 14,4)	0,036* 0,041* 0,918
IFN γ	86,5 (72,2; 101,0)	81,4 (76,1; 119,7)	40,8 (27,5; 51,5)	<0,001*** 0,004** 0,703
IL-1 β	2,4 (2,0; 2,9)	2,6 (2,1; 3,0)	3,8 (2,50; 5,2)	0,003** 0,008** 0,237
IL-6	25,9 (20,0; 32,3)	20,6 (16,2; 28,0)	6,2 (2,7; 9,2)	<0,001*** 0,003** 0,047*
TNF α	3,0 (2,7; 3,9)	2,9 (2,60; 3,4)	2,0 (0,8; 2,8)	0,021* 0,043* 0,513
TNF β	52,3 (48,0; 82,1)	48,4 (45,1; 55,6)	1,4 (0,6; 2,9)	<0,001*** <0,001*** 0,041*
IL-10	14,8 (11,2; 40,5)	9,0 (7,5; 25,2)	6,8 (3,4; 9,1)	<0,001*** 0,005** 0,026*

Note: n – the number of persons in the group; p₁ – probability of differences in HFRS and healthy people groups; p₂ – probability of differences in ARVI and healthy people groups; p₃ – probability of differences in HFRS and ARVI groups; significance of Mann-Whitney differences: * at p<0.05, ** at p<0.01, *** at p<0.001.

Для оценки прогностического значения более выраженного роста уровней этих цитокинов у пациентов с ГЛПС был проведен анализ их 95 %-х доверительных интервалов и выполнено построение ROC-кривых (рис. 3).

Как следует из рисунка 3, уровни всех трех информативных цитокинов показали довольно

высокую прогностическую значимость. Так, в пользу ГЛПС на самых начальных этапах заболевания свидетельствовали уровень ИЛ-6 в сыворотке крови выше 24 пг/мл (AUC = 0,903), уровень ФНО β выше 55 пг/мл (AUC = 0,818), уровень ИЛ-10 выше 11,3 пг/мл (AUC = 0,982).

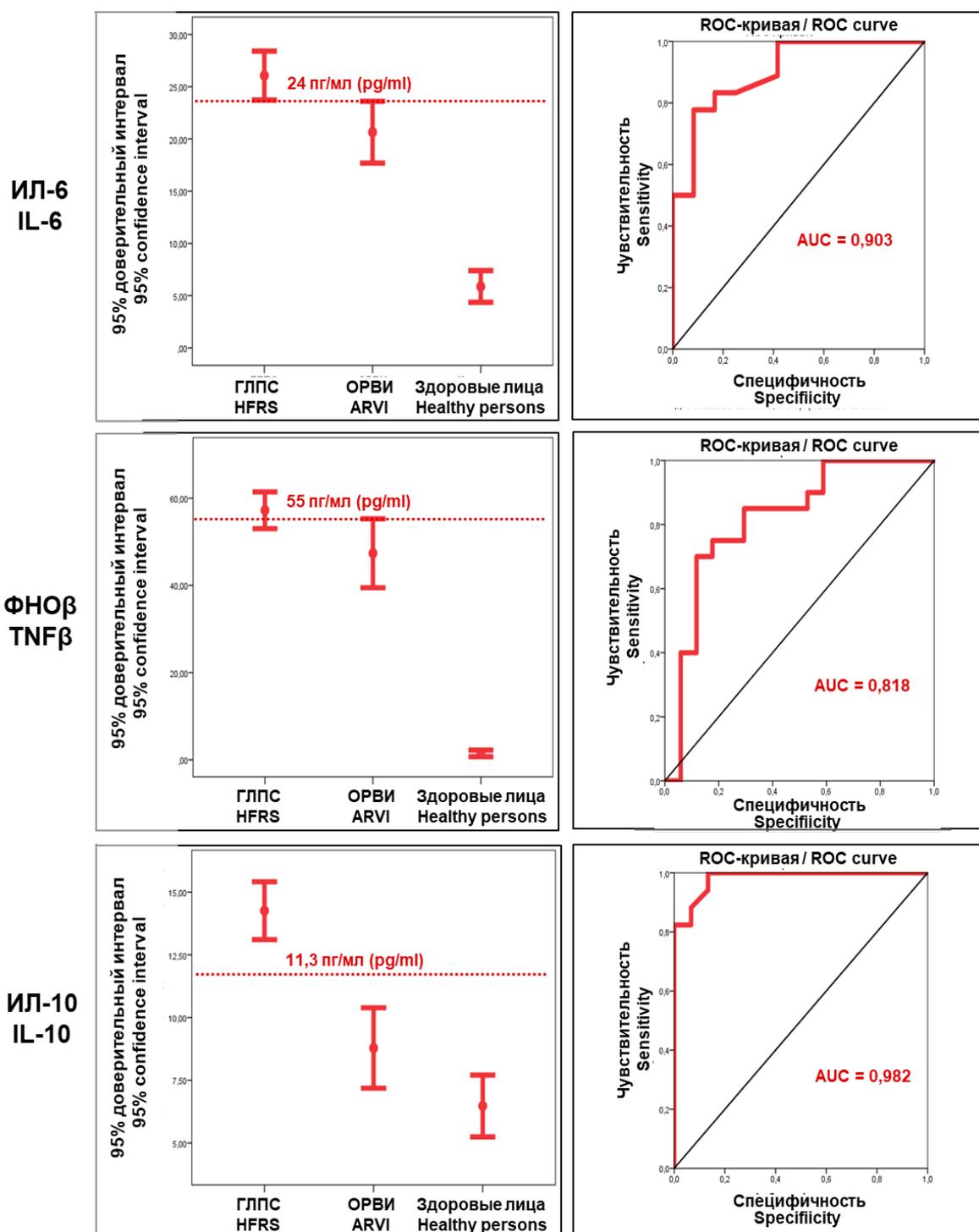


Рис. 3. 95 % доверительные интервалы уровней ИЛ-6, ФНОβ, ИЛ-10 (пг/мл) в сыворотке крови в группах исследования и ROC-кривые их прогностического значения

Fig. 3. 95 % confidence intervals of IL-6, TNFβ, IL-10 levels (pg/ml) in the serums of study group patients and ROC curves of their prognostic value

Далее определялись корреляционные связи между информативными показателями, относящимися к фенотипическим характеристикам лимфоцитов

и цитокинового профиля в крови, на ранних этапах ГЛПС и ОРВИ с использованием коэффициента корреляции Спирмена (рис. 4).

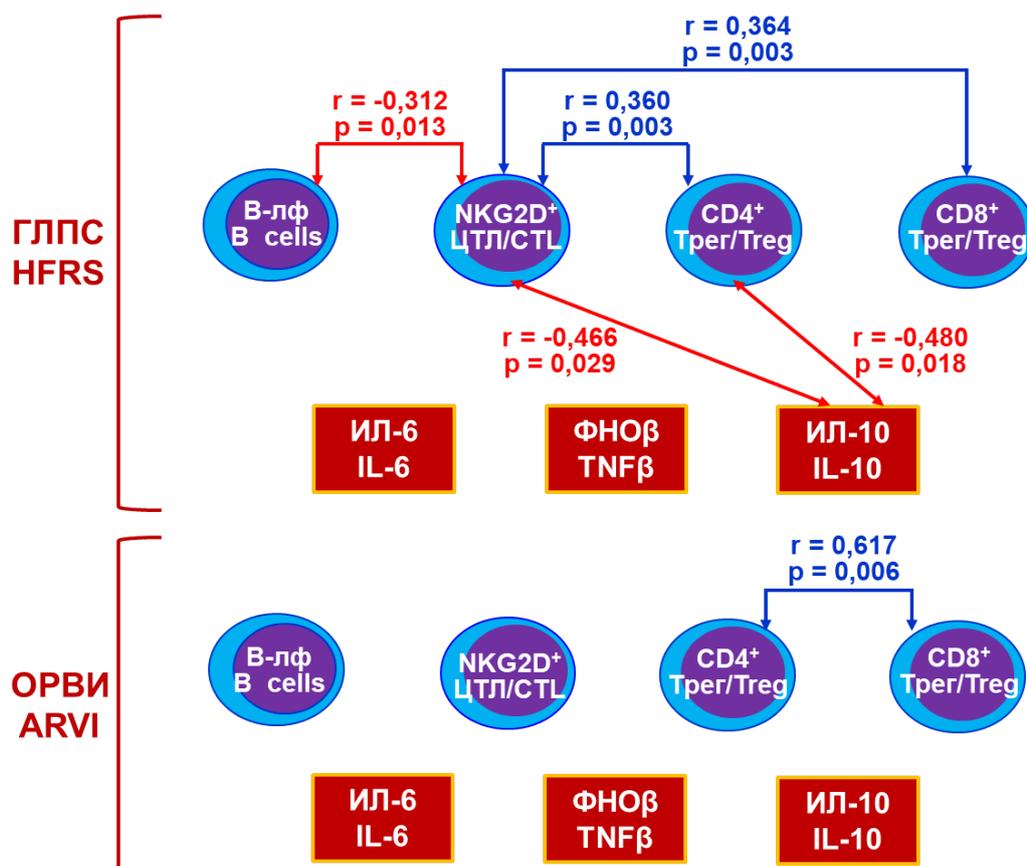


Рис. 4. Достоверные корреляции между информативными иммунологическими признаками при ГЛПС на ранних этапах заболевания и в группе сравнения (ОРВИ)

Fig. 4. Significant correlations between informative immunological signs in the early stages of HFRS and in the comparison group (ARVI)

Как следует из рисунка, показатели, проявившие информативность при ГЛПС, формировали целый ряд статистически значимых корреляций при данном заболевании, чего практически не наблюдалось в группе сравнения — при острых респираторных вирусных инфекциях.

При ГЛПС основным участником почти всех выявленных корреляционных пар служили NKG2D⁺ цитотоксические Т-лимфоциты, которые были связаны со всеми другими информативными фенотипами, а также с противовоспалительным цитокином

ИЛ-10: с В-лимфоцитами и ИЛ-10 отрицательной корреляцией, а с регуляторными клетками CD4⁺ и CD8⁺ положительной корреляцией. Кроме того, ИЛ-10 отрицательно коррелировал с числом CD4⁺ регуляторных Т-клеток. Ничего подобного не отмечалось при ОРВИ, при этой группе вирусных инфекций регистрировалась только одна положительная корреляция — между CD4⁺ и CD8⁺ регуляторными Т-клетками, что довольно естественно.

По результатам, полученным в процессе данного исследования, специального обсуждения заслужи-

вает вопрос о том, насколько патогномичными и патогенетически оправданными для ГЛПС являются прежде всего установленные на ранних стадиях инфекционного процесса сдвиги со стороны таких фенотипов лимфоцитов как рост числа В-лимфоцитов, NKG2D⁺ ЦТЛ, CD4⁺ и CD8⁺ регуляторных Т-клеток.

Проблема сравнительной оценки полученных нами данных с результатами исследований ГЛПС другими авторами осложняется ограниченным распространением этого заболевания только в эндемичных природных очагах, а также, как правило, отсутствием дифференцированного подхода к характеристике иммунопатогенеза ГЛПС в зависимости от стадии инфекционного процесса. В связи с этим следует отметить выраженную ограниченность публикаций, посвященных особенностям иммунопатогенеза на начальных этапах ГЛПС.

Так, в общей характеристике иммунопатогенеза ГЛПС подчеркивается, что данная инфекция сопровождается довольно ранней выработкой антител В-лимфоцитами (начиная с 3–5-го дня заболевания), что отмечено и в наших исследованиях, и приводит к чрезмерной иммунной реактивности, включая массивные цитокиновые реакции и активацию цитотоксических лимфоцитов [14]. На начальных этапах заболевания отмечается роль в диссеминации возбудителя из места проникновения через слизистую оболочку бронхов с активным участием моноцитов и плазмацитоидных дендритных клеток (пДК) с их способностью к индукции гуморального иммунного ответа [15]. Известно, что во время острых инфекций пДК обычно продуцируют высокие уровни интерферонов I типа. Однако поражение этих клеток ортохантавирусами нарушает их функции, что способствует распространению возбудителей во время острой фазы ГЛПС, а также развитию иммунных реакций по клеточному типу, в первую очередь, с участием CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов [15, 16]. Особенно подчеркивается, что наиболее сильный ответ со стороны CD8⁺ Т-клеток наблюдается во время острой фазы [17], однако при всем обилии сведений о ведущей роли этих клеток

в ответ на ортохантавирусную инфекцию в доступной литературе мы не обнаружили сведений о роли NKG2D-зависимого механизма активации ЦТЛ при ГЛПС и его патогенетическом значении, которое мы в своих работах трактуем с позиций раннего формирования иммунологической памяти, обеспечивающего исключительно острое течение данного инфекционного процесса [12].

Отмечен рост числа регуляторных Т-клеток (Трег, FoxP3⁺) с их иммуносупрессорной активностью при ГЛПС [18]. Это явление имеет неоднозначное трактование. Существует такое объяснение, что причина высоких значений Трег кроется в обследовании лиц из эндемичных регионов, ранее уже сталкивавшихся с ортохантавирусами [19]. Некоторые авторы придают этой особенности иммунного реагирования на ортохантавирусы как фактору, снижающему воспалительно-деструктивные процессы при ГЛПС [5], в то же время есть точка зрения, что именно рост числа FoxP3⁺ Т-лимфоцитов (Трег) определяет тяжесть течения ортохантавирусной инфекции, при этом отмечен рост как CD4⁺, так и CD8⁺ Трег [20]. Есть сведения о том, что Трег выполняют особую функцию в защитных реакциях на повреждение, восстановление и поддержание тканей [21]. В то же время мы не встретили сведений о том, что нарастание числа этих клеток наблюдается при ГЛПС уже в первые дни инфекционного процесса, а также указаний на возможную положительную корреляционную связь этих клеток с NKG2D⁺ ЦТЛ.

Что касается сопутствующих системных воспалительных реакций, то, как отмечено и в наших исследованиях, рост ИЛ-6 и ФНО в крови, а также в моче еще в лихорадочный период широко обсуждается в литературе, при этом ассоциируется как с размножением ортохантавирусов в эндотелии сосудов, так и с нарушением функции почек [22]. Отмечается также зарегистрированное и нами значительное повышение в крови уровня ИЛ-10 на ранних стадиях заболевания, патогенетическое значение которого оценивается с позиций его прогностического значения при тяжелом течении ГЛПС [22].

Выводы

1. Развитие геморрагической лихорадки с почечным синдромом уже на самых ранних этапах заболевания сопровождается особым набором иммунологических сдвигов, касающихся корреляционно связанных между собой фенотипических характеристик лимфоцитов и особенностей цитокинового профиля крови.

2. По выраженности наблюдаемых иммунологических изменений ГЛПС статистически достоверно отличается от других вирусных инфекций (ОРВИ) с примерно схожим механизмом заражения.

3. В диагностически значимые критерии ранней диагностики ГЛПС входит рост содержания в крови цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ), экспрессирующих активировавший лектиновый рецептор NKG2D (>25 %), регуляторных CD4⁺ (>7,8 %) и CD8⁺ (>9,5 %) Т-клеток, В-лимфоцитов (>12,6 %), интерлейкина-10 (>11,3 пг/мл), а также интерлейкина-6 (>24 пг/мл) и фактора некроза опухоли β (>55 пг/мл).

4. Ключевое патогенетическое значение роста CD3⁺CD8⁺CD314⁺ ЦТЛ при ГЛПС создает перспективу раскрытия новых мишеней для иммунотерапии ГЛПС и разработки новых принципов получения вакцинных препаратов с целью профилактики этого заболевания.

References/Библиографический список

1. Borodina ZhI, Tsarenko OE, Monakhov KM, Bagautdinova LI. Hemorrhagic fever with renal syndrome — a problem of modernity. *Archive of Internal Medicine*, 2019;6:419–427. doi: 10.20514/2226–6704–2019–9–6–419–427. (In Russian). [Бородина Ж.И., Царенко О.Е., Монахов К.М., Багаутдинова Л.И. Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом — проблема современности. Архив внутренней медицины. 2019. (6): 419–427].

2. Avsic-Zupanc T, Saksida A, Korva M. Hantavirus infections. *Clin Microbiol Infect*. 2019;21S:6–16. doi: 10.1111/1469–0691.12291

3. Tkachenko E, Kurashova S, Balkina A, Ivanov A, Egorova M, Leonovich O, Popova Yu, Teodorovich R, Belyakova A, Tkachenko P, Trankvilevsky D, Blinova E, Ishmukhametov A, Dzagurova T. Cases of hemorrhagic fever with renal syndrome in Russia during 2000–2022. *Viruses*. 2023;15(7):1537. doi: 10.3390/v15071537

4. Supotnitskiy MV. Viral hemorrhagic fevers. In: Biological War. Introduction to the Epidemiology of Artificial Epidemic Processes and Biological Lesions. Moscow: Chair, Russian Panorama. 2013:887–927. (In Russian). [Супотницкий М.В. Вирусные геморрагические лихо-

радки / В кн.: Биологическая война. Введение в эпидемиологию искусственных эпидемических процессов и биологических поражений. М: Кафедра, Русская панорама. 2013. 887–927].

5. Jiang H, Wang LM, Wang PZ, Bai XF. Hemorrhagic fever with renal syndrome: pathogenesis and clinical picture. *Front Cell Infect Microbiol*. 2016;6:1–14. doi: 10.3389/fcimb.2016.00001

6. Liu R, Ma H, Shu J, Zhang Q, Han M, Liu Z, Jin X, Zhang F, Wu X. Vaccines and Therapeutics Against Hantaviruses. *Front Microbiol*. 2020;10:2989. doi: 10.3389/fmicb.2019.02989

7. Guterres A, de Oliveira CR, Fernandes J, de Lemos RSE. The mystery of the phylogeographic structural pattern in rodent-borne hantaviruses. *Mol Phylogenet Evol*. 2019;136:35–43. doi: 10.1016/j.ympev.2019.03.020

8. Morozov VG, Ishmukhametov AA, Dzagurova TK, Tkachenko EA. Clinical features of hemorrhagic fever with renal syndrome in Russia. *Infectious diseases*. 2017;(5):156–161. doi: 10.21518/2079–701x-2017–5–156–161. (In Russian). [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): 156–161].

9. Manigold T, Vial P. Human hantavirus infections: epidemiology, clinical features, pathogenesis and immunology. *Swiss Med Wkly*. 2014;144:13937–13955. doi: 10.4414/smw.2014.13937

10. Klingström J, Smed-Sörensen A, Maleki KT, Solà-Riera C, Ahlm C, Björkström NK, Ljunggren HG. Innate and adaptive immune responses against human Puumala virus infection: immunopathogenesis and suggestions for novel treatment strategies for severe hantavirus-associated syndromes. *J Intern Med*. 2019;285(5):510–523. doi: 10.1111/joim.12876

11. Terajima M, Hendershot 3rd, JD, Kariwa H, Koster FT, Hjelle B, Goade D, DeFronzo MC, Ennis FA. High levels of viremia in patients with the hantavirus pulmonary syndrome. *J Infect Dis*. 1999;180(6):2030–2034. doi: 10.1086/315153

12. Vereta LA, Elisova TD, Voronkova GM, Mzhelskaya TV. Method of early diagnosis of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Patent RU 2683955*, publ. 2019–04–03. (In Russian). [Верета Л.А., Елисова Т.Д., Воронкова Г.М., Мжельская Т.В. Способ ранней диагностики геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Патент РФ 2683955, опубли. 03.04.2019].

13. Ivanov MF, Balmasova IP, Zhestkov AV, Konstantinov DY, Malova ES. Expression of NKG2D by cytotoxic T-lymphocytes as a possible mechanism of immunopathogenesis of hemorrhagic fever with renal syndrome. *Immunologiya*. 2023;44(1):93–102. doi: 10.33029/0206–4952–2023–43–1–93–102. (In Russian). [Иванов М.Ф., Балмасова И.П., Жестков А.В., Константинов Д.Ю., Малова Е.С. Экспрессия NKG2D цитотоксическими Т-лимфоцитами как возможный механизм иммунопатогенеза геморрагической лихорадки с почечным синдромом. Иммунология. 2023. 44(1): 93–102].

14. Habibzadeh F, Habibzadeh P, Yadollahie M. On determining the most appropriate test cut-off value: the case of tests with continuous results. *Biochem Med (Zagreb)*. 2016;26(3):297–307. doi: 10.11613/BM.2016.034

15. Scholz S, Baharom F, Rankin G, Maleki KT, Gupta S, Vangeti S, Pourazar J, Discacciati A, Höijer J, Bottai M, Björkström NK, Rasmuson J, Evander M, Blomberg A, Ljunggren H-G, Klingström J, Ahlm C, Smed-Sörensen A. Human hantavirus infection elicits

pronounced redistribution of mononuclear phagocytes in peripheral blood and airways. *PLoS Pathog.* 2017;13(6): e1006462. doi: 10.1371/journal.ppat.1006462

16. Stoltz M, Ahlm C, Lundkvist A, Klingström J. Lambda interferon (IFN- λ) in serum is decreased in hantavirus-infected patients, and in vitro-established infection is insensitive to treatment with all IFNs and inhibits IFN- γ -induced nitric oxide production. *J Virol.* 2007;81(16):8685–8691. doi: 10.1128/JVI.00415–07

17. Linderholm M, Ahlm C, Settergren B, Waage A, Tärnvik A. Elevated plasma levels of tumor necrosis factor (TNF)- α , soluble TNF receptors, interleukin (IL)-6, and IL-10 in patients with hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Infect Dis.* 1996;173(1):38–43. doi: 10.1093/infdis/173.1.38

18. Flippe L, Bézie S, Anegon I, Guillonneau C. Future prospects for CD8⁺ regulatory T cells in immune tolerance. *Immunol Rev.* 2019;292(1):209–224. doi: 10.1111/imr.12812

19. Maes P, Clement J, Groeneveld PH, Colson P, Huizinga TWJ, van Ranst M. Tumor necrosis factor- α genetic predisposing factors can

influence clinical severity in nephropathia epidemica. *Viral Immunol.* 2006;19(3):558–564. doi: 10.1089/vim.2006.19.558

20. Koivula TT, Tuulasvaara A, Hetemäki L, Mäkelä SM, Mustonen J, Sironen T, Vaheeri A, Arstila TP. Regulatory T cell response correlates with the severity of human hantavirus infection. *J Infect.* 2014;68(4):387–394. doi: 10.1016/j.jinf.2013.11.007

21. Arpaia N, Green JA, Moltedo B, Arvey A, Hemmers S, Yuan S, Treuting PM, Rudensky AY. A distinct function of regulatory T cells in tissue protection. *Cell.* 2015;162(5):1078–1089. doi: 10.1016/j.cell.2015.08.021

22. Fan W, Liu X, Yue J. Determination of urine tumor necrosis factor, IL-6, IL-8, and serum IL-6 in patients with hemorrhagic fever with renal syndrome. *Braz J Infect Dis.* 2012;16(6):527–530. doi: 10.1016/j.bjid.2012.10.002

23. Lee G-Y, Kim W-K, No JS, Yi Y, Park HC, Jung J, Cho S, Lee J, Lee S-H, Park K, Kim J, Song J-W. Clinical and immunological predictors of hemorrhagic fever with renal syndrome outcome during the early phase. *Viruses.* 2022;14(3):595. doi: 10.3390/v14030595

Ответственный за переписку: Иванов Михаил Федорович — кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой общей и клинической патологии: патологической анатомии, патологической физиологии Самарского государственного медицинского университета, Российская Федерация, 443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, д. 171. E-mail: m.f.ivanov@samsmu.ru.

Иванов М.Ф. SPIN 2195–3768; ORSID: 0000–0002–2528–0091

Балмасова И.П. SPIN 8025–8611; ORSID: 0000–0001–8194–2419

Малова Е.С. SPIN 8207–7835; ORCID: 0000–0001–5710–3076

Константинов Д.Ю. SPIN 3061–8265; ORSID: 0000–0002–6177–8487

Corresponding author: Ivanov Mikhail Fedorovich — PhD, MD, Associate Professor, Head of the Department of General and Clinical Pathology: Pathological Anatomy, Pathological Physiology, Samara State Medical University, Russian Federation, 443001, Samara, st. Artsybushevskaya, 171. E-mail: m.f.ivanov@samsmu.ru.

Ivanov M.F. ORSID: 0000–0002–2528–0091

Balmasova I.P. ORSID: 0000–0001–8194–2419

Malova E.S. ORCID: 0000–0001–5710–3076

Konstantinov D. Yu. ORSID: 0000–0002–6177–8487