

ДИСБАЛАНС ПРОДУКЦИИ И РЕЦЕПЦИИ IL-2 И IL-4 ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ АНТИГЕНЕМИИ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Зима А.П., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В., Жукова О.Б., Жукова Н.Г., Лепехин А.В., Радзивил Т.Т.

Кафедра патофизиологии и кафедра фундаментальных основ клинической медицины ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Томск

Резюме. Целью настоящего исследования явилась оценка роли IL-2 и IL-4 как одних из основных иммунорегуляторных цитокинов в механизмах нарушения межклеточной кооперации иммуноцитов при длительной антигенемии вируса клещевого энцефалита. С привлечением современных иммунологических и молекулярно-генетических методов исследования выявлен дисбаланс в продукции и рецепции Th1- и Th2-цитокинов (IL-2 и IL-4 соответственно) мононуклеарными лейкоцитами периферической крови в направлении Th2 при длительной антигенемии вируса клещевого энцефалита. Установлено, что при анализе роли аллельного полиморфизма генов IL-4 в развитии предрасположенности к длительной персистенции вируса клещевого энцефалита необходимо учитывать не только наличие аллельных вариантов промоторных участков генов самого IL-4, но и полиморфизм генов молекул, рецептирующих этот цитокин.

Ключевые слова: клещевой энцефалит, иммунокомпетентные клетки, цитокины, рецепторы цитокинов.

Zima A.P., Ryazantseva N.V., Novitsky V.V., Zhukova O.B., Zhukova N.G., Lepechin A.V., Radzivil T.T.

IMBALANCE IN IL-2 AND IL-4 PRODUCTION AND RECEPTION DURING PROLONGED VIRAL ANTIGENEMIA IN TICK-BORN ENCEPHALITIS

Abstract. The aim of present study was to evaluate a role of certain key immunoregulatory cytokines, IL-2 and IL-4, in development of disturbed intercellular cooperation of immunocytes during long-term antigenemia in tick-borne encephalitis infection. By means of novel immunological and molecular biology testing techniques, an imbalance in production and reception of Th1- and Th2-cytokines (resp., IL-2 and IL-4) by mononuclear leukocytes from peripheral blood towards Th2 response was found in cases of prolonged tick-borne encephalitis viral antigenemia. The study has revealed that, when analyzing effects of IL-4 gene polymorphisms upon predisposition to longer persistence of tick-borne encephalitis virus, there is necessary to observe both promoter allelic variants of IL-4 genes, and polymorphisms of appropriate cytokine receptor genes. (*Med. Immunol.*, vol. 10, N 4-5, pp 389-396)

Введение

Клещевой энцефалит (КЭ) — одно из самых распространенных природно-очаговых заболева-

ний нервной системы. Современный клинический облик данной нейроинфекции связан со способностью вируса длительное время сохраняться в активном состоянии после адекватного лечения острых форм заболевания [3, 5, 6, 8, 10, 12, 13, 21]. К настоящему времени накоплены данные клинико-эпидемиологических и экспериментальных исследований, выполненных с применением современных молекулярно-биологических и иммунологических методов, создающие вполне целостную картину патогенеза острых форм клещевого энцефалита [10, 14, 15, 16, 21, 27, 28]. Вместе с тем обращает на себя внимание незначительное число

Адрес для переписки:

Зима Анастасия Павловна
634050, г. Томск, Московский тракт, 2,
СибГМУ, кафедра фундаментальных основ
клинической медицины.
Тел.: 8-913-827-71-07.
Факс: (3822) 53-33-09.
E-mail: zima.a@mail.ru

исследований, посвященных изучению иммунопатогенеза длительной антигенемии вируса клещевого энцефалита.

Известно, что исход инфекционного процесса предопределяется результатом взаимодействия вируса и клетки-хозяина и зависит как от вирулентности возбудителя, определяемой совокупным действием его факторов патогенности, так и антиинфекционного потенциала иммунной системы человека, имеющего в своей основе особенности кооперации иммунокомпетентных клеток. При этом ключевым звеном в протекции макроорганизма от длительной персистенции вируса является формирование специфического иммунного ответа, что во многом определяется участием Т-лимфоцитов-хелперов (Th). Выбор лимфоцитом Th1- или Th2-пути дифференцировки зависит от многих факторов: природы и способа презентации антигена, функционального статуса иммунокомпетентных клеток, спектра цитокинов, продуцируемых CD4⁺ лимфоцитами и участвующих в формировании антигенспецифического клеточного и гуморального иммунного ответа. Так, дифференцировка Т-хелперов в направлении Th1-клона контролируется преимущественно IL-2 и IL-12, а в направлении Th2 – IL-4 [20, 22].

Целью настоящего исследования явилась оценка роли дисбаланса продукции и рецепции иммунорегуляторных цитокинов – IL-2 и IL-4 – в механизмах нарушения межклеточной кооперации иммунокомпетентных клеток крови при длительной антигенемии вируса клещевого энцефалита.

Материалы и методы

Обследованы 183 пациента в возрасте от 18 до 45 лет (средний возраст составил 37±7 лет) с длительной (более 6 мес.) антигенемией вируса КЭ. Диагноз КЭ устанавливали на основании эпидемиологических данных (присасывание или обнаружение ползающих клещей), указаний на инкубационный период, выявления ранних клинических признаков (острое начало, общеинфекционный синдром). Диагноз был верифицирован путем обнаружения антигена вируса КЭ в клеще и крови у пациентов с использованием иммуноферментного анализа (ИФА), реакции непрямой гемагглютинации, а также специфических антител классов IgM и IgG к антигену вируса КЭ (ИФА) и РНК вируса КЭ с помощью полимеразной цепной реакции. Забор крови для исследования проводили через 6 мес. выявления в крови вируса КЭ.

В первую группу были включены 104 пациента с антигенемией вируса КЭ, у которых наблюдалась остаточная клиническая симптоматика;

в анамнезе было указание на эпизод манифестной лихорадочной формы КЭ средней степени тяжести. Большинство пациентов отмечали головную боль (особенно после эмоциональной или физической нагрузки), быструю утомляемость, повышенную раздражительность, бессонницу, частую смену настроения, снижение памяти и инициативы. При тщательном неврологическом обследовании пациентов были выявлены рассеянные органические микросимптомы в виде анизорефлексии с непостоянными знаками орального автоматизма, гиперестезии в конечностях, выраженных вегетативных расстройств (повышенная потливость, стойкий красный дермографизм, гипергидроз дистальных отделов конечностей). Вторую группу обследованных составили 79 человек с длительной бессимптомной антигенемией вируса КЭ: пациенты во время обследования жалоб не предъявляли, со стороны неврологического и соматического статуса каких-либо изменений выявлено не было. Критериями исключения пациентов из исследования являлись наличие у них иных инфекционных заболеваний, обострений хронических болезней, иммунопатий разного генеза, алкогольной и наркотической зависимости.

Контрольную группу составили 40 практически здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту, отрицающих факт присасывания клеща.

Исследовали стабилизированную гепарином (25 ЕД/мл) венозную кровь, взятую утром до приема пищи. Мононуклеары выделяли в стерильных условиях из цельной венозной крови методом градиентного центрифугирования с использованием Ficoll-Paque («Pharmacia», Швеция) ($\rho = 1,077 \text{ г/см}^3$). Выделенные клетки культивировали в течение 18 ч при температуре 37° и 5% CO₂ в полной культуральной среде (90% RPMI-1640 («Вектор-Бест», Новосибирск), 10% инактивированная эмбриональная телячья сыворотка («Биолот», Санкт-Петербург), 0,3 мг/мл L-глутамин) без митогена или с добавлением 10 мкг/мл фитогемагглютинаина (ФГА) («Difco», Германия) для активации лимфоцитов. Продукцию мононуклеарными лейкоцитами IL-2 и IL-4 оценивали в супернатантах клеточных культур с помощью ИФА. Процедуру выполнения ИФА проводили по инструкциям, предлагаемым производителями тест-систем («ProCon», Россия).

Количество лимфоцитов периферической крови, несущих соответствующие мембраносвязанные рецепторы к IL-2 и IL-4 (IL-2R и IL-4R), оценивали методом проточной лазерной цитометрии с использованием меченых моноклональных антител (МКАТ) к IL-2R и IL-4R (CD25 и CD104). После культивирования клетки отмывали фосфатным буфером (pH = 7,2) и окраши-

вали стандартными МКАТ к IL-2R и IL-4R, меченными PE («Immunotech», Франция), в объеме 10 мкл. Анализ проводили на основе определения малого углового светорассеяния (FSC), характеризующего размер клетки, и бокового светорассеяния (SSC), характеризующего цитоплазматические, а также мембранные особенности клетки. Наряду с этим анализировали параметры оранжевой (PE – 530 нм) флуоресценции в гейте лимфоцитарных клеток, выявляемых на FL2-канале.

Выделение ДНК проводили методом фенольной экстракции с помощью коммерческого набора «ВектоДНКэкстракция» («Вектор-Бест», Россия). Концентрацию и чистоту выделенной ДНК определяли спектрофотометрическим методом. Выделенную ДНК замораживали и хранили при -20°C . Генотипирование аллельных вариантов осуществляли методом рестрикционного анализа продуктов амплификации специфических участков генома. Амплификацию осуществляли путем полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в современной литературе, и учитывая применение амплификатора «Tercik MC2» («ДНК-технология», Россия). Было исследовано два полиморфных варианта IL-4 и его рецептора – С-590Т IL-4 и Ile-50Val IL-4RA, все изученные мутации локализованы в промоторных участках соответствующих генов.

Реакционная среда общим объемом 20 мкл состояла из буфера для проведения ПЦР («Сибэнзим», Россия), включающего в себя: 60 мМ Трис-НСI (рН 8,5); 25 мМ КСI; 1,5 мМ MgCl₂; 10 мМ 0,1% меркаптоэтанол; Triton X-100; а также 30 пкМ каждого олигонуклеотида; 125 мкМ каждого dNTP («Сибэнзим», Россия); 50-200 нг геномной ДНК и 1-2 единицы Taq полимеразы («Сибэнзим», Россия). Программа амплификации включала в себя предварительную денатурацию при 94°C в течение 5 мин с последующими 30-35 циклами отжига при специфической для каждой пары праймеров температуре (1 мин), элонгации цепи при 72°C (1 мин) и денатурации при 94°C (1 мин). Завершала программу финальная элонгация при 72°C в течение 5 мин.

После проведения ПЦР 3-5 мкл амплификата разделяли в 2% агарозном геле, содержащем 0,5 мг/мл этидиум бромид, при напряжении 120-130 В в течение нескольких минут для последующей визуализации в ультрафиолетовом свете, подтверждающей наличие продукта амплификации. Затем продукты амплификации подвергали рестрикции соответствующими эндонуклеазами: для определения полиморфизма гена IL-4 рестрикционная смесь включала в себя 7-9 мкл амплификата, 1,0-1,2 мкл 10× буфера для рестрикции («New England Biolabs», Великобритания) и 1-2 единицы

активности фермента; для определения полиморфизма гена IL-4RA – 5 мкл амплификата, 5 мкл 2× буфера для рестрикции и 1-2 единицы Msp I. Рестрикцию продукта амплификации гена IL-4 проводили в течение 6 ч при 45°C , IL-4R – 3 ч при 60°C . Продукты рестрикции разделяли с помощью электрофореза в 2% агарозном геле, содержащем 0,5 мг/мл этидиум бромид, при напряжении 120-130 В в течение 30-45 мин и визуализировали в ультрафиолетовом свете. В качестве маркера размера ДНК использовали плазмиду pUC19, расщепленную рестриктазой MspI («Сибэнзим», Россия).

Для проверки нормальности распределения показателей использовали критерий Шапиро–Уилка; равенство выборочных средних проверяли по U-критерию Манна–Уитни. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга с помощью точного теста Фишера. Для сравнения частот аллелей между различными группами использовали критерий χ^2 Пирсона и точный тест Фишера. Обработку результатов генетических исследований осуществляли с помощью критерия отношения шансов (OR) с расчетом для него 95% доверительного интервала. При OR = 1 говорили об отсутствии связи между сравниваемыми факторами, при OR < 1 – об отрицательной связи и, при OR > 1 – о положительной связи признаков.

Результаты и обсуждение

Активность Т-клеточного звена иммунитета при хронической вирусной инфекции играет крайне важную роль [1, 11, 12, 22]. Ранее нами было показано, что при длительной антигенемии вируса КЭ имеет место снижение относительного содержания CD3⁺ лимфоцитов, абсолютного и процентного числа CD4⁺ клеток, а также изменение значений индекса иммунореактивности [4, 12, 14, 15, 17].

Функциональный статус звеньев иммунной системы определяется прежде всего способностью Т-лимфоцитов продуцировать основные иммунорегуляторные цитокины и экспрессировать соответствующие рецепторы к ним.

К числу цитокинов, играющих важную роль в формировании противовирусного иммунитета, относится IL-2 – аутокринный ростовой фактор лимфоцитов, продукция которого является индуцибельной. Его связывание с высокоаффинными мембранными рецепторами инициирует стимуляцию пролиферации и дифференцировки цитотоксических лимфоцитов, В-лимфоцитов, клеточную пролиферацию, служит фактором роста Т-клеток и обеспечивает повышение цитолитической активности НК-клеток. Кроме

того, IL-2 вызывает функциональную активацию Т- и В-лимфоцитов, NK-клеток, моноцитов, тканевых макрофагов, направленную на участие клеток в защитных реакциях организма [7, 19, 20, 22]. Как показали результаты исследования продукции и рецепции IL-2 лимфоцитами периферической крови у пациентов с длительной персистенцией вируса КЭ, количество CD25⁺ лимфоцитов уменьшалось по сравнению с их параметрами у здоровых доноров вне зависимости от стимуляции мононуклеаров митогеном, в то время как уровень IL-2 был снижен только в супернатантах ФГА-стимулированных *in vitro* культур мононуклеарных лейкоцитов (табл. 1). При этом у больных с цереброгенной астенией на фоне длительной антигенемии вируса КЭ было зарегистрировано достоверно более значимое уменьшение относительного и абсолютного количества IL-2R⁺ лимфоцитов в интактной культуре, а также процентного содержания лимфоцитов в ФГА-стимулированной *in vitro* культуре мононуклеаров по сравнению с аналогичными показателями у лиц с персистенцией антигена возбудителя КЭ без клинической симптоматики (табл. 1).

Механизмы подавления индуцированного синтеза IL-2 при вирусных инфекциях остаются недостаточно изученными. По-видимому, имеет место не один, а несколько типов ингибирования [7, 12, 23]. Особенности действия, уровень продукции цитокина и его биологическая активность

находятся под влиянием различных факторов. К их числу относятся соотношение рецепторов – агонистов и антагонистов («ловушек») – к цитокину, его взаимодействие с компонентами внеклеточного матрикса и белками плазмы, способствующее инактивации циркулирующего цитокина [19, 26]. Кроме того, имеются сведения, что белковые продукты флавивирусов могут блокировать внутриклеточную передачу сигналов от рецепторов и снижать секрецию IL-2 активированными Т-лимфоцитами [2, 24]. Это также может вызывать смещение баланса в пользу Th2, что является частью стратегии выживания вируса. Таким образом, снижение продукции IL-2, являющегося одним из регуляторов Th1/Th2-баланса, вероятно, является одной из причин угнетения функциональной способности Th1, обеспечивая тем самым активацию гуморального звена иммунитета и секрецию медиаторов, ингибирующих Th1, таких как IL-4 и IL-10.

Основные иммунологические функции при трансдукции сигнала от IL-4 заключаются в пролиферации лимфоцитов, отклонении дифференцировки Т-лимфоцитов в сторону Th2, активации В-лимфоцитов. То есть главным эффектом в организме при взаимодействии IL-4 со своим рецептором на мононуклеарных лейкоцитах является стимуляция гуморального звена иммунитета. IL-4R комплекс был обнаружен на В-клетках, Т-лимфоцитах, моноцитах, эндотелиальных клетках, что вполне логично согла-

ТАБЛИЦА 1. КОЛИЧЕСТВО ЛИМФОЦИТОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ IL-2-РЕЦЕПТОР, СОДЕРЖАНИЕ IL-2 В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ДЛИТЕЛЬНОЙ АНТИГЕНЕМИЕЙ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА [МЕ(Q1-Q3)]

Показатель			Характеристика обследованных		
			Здоровые доноры	Пациенты с длительной антигенемией вируса клещевого энцефалита	
				Пациенты с остаточными проявлениями нейроинфекции	Пациенты с бессимптомным носительством антигена вируса клещевого энцефалита
Интактная культура	Количество IL-2-R ⁺ лимфоцитов	%	72,03 (68,25-78,13)	27,29 (22,27-33,57)**	44,13 (35,18-47,56)** ***
		x 10 ⁹ /л	1,93 (1,11-3,89)	0,57 (0,49-0,78)**	0,77 (0,56-0,94)** ***
	Содержание IL-2, нг/мл	42,75 (36,18-48,16)	44,36 (38,65-46,28)	55,25±7,51	
ФГА-стимулированная культура	Количество IL-2R ⁺ лимфоцитов	%	89,13 (79,25-98,32)*	29,46 (23,87-33,18)**	40,86 (36,24-50,41)** ***
		x 10 ⁹ /л	2,37 (1,37-4,60)	0,56 (0,43-0,97)**	0,73 (0,55-1,35)**
	Содержание IL-2, нг/мл	195,58 (186,14-212,47)*	96,55 (91,42-98,15)* **	101,45 (95,23-118,32)* **	

Примечание: здесь и в табл. 2: * – p < 0,05 по сравнению со значениями аналогичных показателей в интактной культуре у лиц данной клинической группы; ** – по сравнению со значениями показателей у здоровых доноров; *** – по сравнению со значениями показателей у пациентов с остаточными проявлениями клещевого энцефалита.

суется с широким диапазоном биологического эффекта IL-4 [20, 22].

Как показали результаты исследования, направленного на оценку состояния цитокин-рецепторной системы лимфоцитов, изменения содержания IL-4 в супернатантах как интактных, так и ФГА-стимулированных культур мононуклеарных лейкоцитов периферической крови у пациентов с длительной антигенемией вируса клещевого энцефалита характеризовались возрастанием изученных показателей по сравнению с нормальными значениями (табл. 2). При этом у пациентов с остаточными проявлениями клещевого энцефалита статистически значимо ($p < 0,05$ во всех случаях) возрастало относительное и абсолютное количество лимфоцитов, презентующих рецептор к IL-4, относительно аналогичных показателей у здоровых людей, а в ФГА-стимулированной *in vitro* культуре клеток – относительно здоровых людей и пациентов с бессимптомным носительством вируса клещевого энцефалита (табл. 2).

Поскольку конечный результат биологического эффекта цитокинов определяется количественным их содержанием и экспрессией специфических рецепторов, на основании анализа числа лимфоцитов, презентующих IL-2- и IL-4-рецепторы в условиях *in vitro*, и содержания соответствующих лигандов в супернатантах культур мононуклеарных лейкоцитов периферической крови мы можем констатировать факт модуляции

межклеточной кооперации эффекторных клеток иммунитета у пациентов с длительной антигенемией вируса КЭ, причем наиболее выраженной при наличии у обследованных лиц остаточной симптоматики нейроинфекции.

Феномен изменения продукции цитокина и экспрессии соответствующего рецептора, регистрируемый при длительной персистенции вируса клещевого энцефалита, может быть обусловлен распределением аллелей генов предрасположенности/резистентности, формирующих риск инфицирования и развития хронических форм заболевания. Показано существование аллелей генов многих цитокинов и рецепторов к ним, а также доказана связь аллельных вариантов генов цитокинов с тяжестью и продолжительностью заболеваний. Помимо роли цитокинов в патогенезе и клинических проявлениях заболеваний установлено, что структурные особенности белковых продуктов полиморфных генов цитокинов ведут к различному качеству иммунного ответа и, соответственно, к различным течению и исходу болезни [9, 18, 25].

Согласно данным литературы, склонность к хроническому течению вирусных инфекций может быть связана с аллельным вариантом С-590Т гена IL-4 [9, 18, 25]. Однако среди обследованных нами пациентов с длительной антигенемией вируса КЭ и здоровых людей статистически значимых различий в распределении генотипов промоторного региона С-590Т гена

ТАБЛИЦА 2. КОЛИЧЕСТВО ЛИМФОЦИТОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ IL-4-РЕЦЕПТОР, СОДЕРЖАНИЕ IL-4 В СУПЕРНАТАНТАХ КУЛЬТУР МОНОНУКЛЕАРНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ДЛИТЕЛЬНОЙ АНТИГЕНЕМИЕЙ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА [МЕ(Q1-Q3)]

Показатель			Характеристика обследованных		
			Здоровые доноры	Пациенты с длительной антигенемией вируса клещевого энцефалита	
				Пациенты с остаточными проявлениями нейроинфекции	Пациенты с бессимптомным носительством антигена вируса клещевого энцефалита
Интактная культура	Количество IL-4R+ лимфоцитов	%	3,02 (1,98-3,48)	8,19 (3,97-10,41)**	5,39 (2,81-6,43)
		x 10 ⁹ /л	0,07 (0,04-0,11)	0,12 (0,09-0,20)**	0,08 (0,05-0,13)
	Содержание IL-4, нг/мл		59,72 (54,35-65,87)	116,30 (115,69-124,35)**	87,43 (82,16-93,54)** ***
ФГА-стимулированная культура	Количество IL-4R+ лимфоцитов	%	7,06 (5,15-5,35)*	13,95 (6,57-25,01)* **	4,18 (2,94-7,01)***
		x 10 ⁹ /л	0,10 (0,06-0,18)	0,18 (0,14-0,38)**	0,09 (0,07-0,10)***
	Содержание IL-4, нг/мл		138,91 (130,25-155,16)*	233,73 (225,41-241,52) * **	200,48 (193,13-218,35)* **

ТАБЛИЦА 3. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ С-590Т ГЕНА IL-4 [% (абс.)] СРЕДИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И ПАЦИЕНТОВ С ДЛИТЕЛЬНОЙ АНТИГЕНЕМИЕЙ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Регистрируемый показатель	Характеристика обследованных		χ^2	OR (95% CI)
	Здоровые доноры	Пациенты с длительной антигенемией вируса клещевого энцефалита		
C/C	29,17 (14)	21,62 (16)	0,53 p > 0,05	0,67 (0,27-1,67)
C/T	58,33 (28)	67,57 (50)	0,71 p > 0,05	1,49 (0,66-3,38)
T/T	12,50 (6)	10,81 (8)	0,01 p > 0,05	0,85 (0,24-3,00)
C	0,58 (56)	55,40 (82)	0,10 p > 0,05	0,89 (0,51-1,54)
T	0,42 (40)	44,60 (66)		

Примечание: здесь и в табл. 4: p – достоверность различий показателей по сравнению с их значениями у здоровых доноров; χ^2 – стандартный критерий Пирсона для сравнения частот генотипов и аллелей генов; OR – критерий отношения шансов, отражающий относительный риск развития заболевания при определенном генотипе по сравнению со здоровыми донорами с 95% доверительным интервалом.

IL-4 обнаружено не было (табл. 3). Установлено, что мононуклеарные лейкоциты периферической крови у пациентов с длительной антигенемией вируса КЭ, носителей разных генотипов полиморфного локуса С-590Т гена IL-4, способны секретировать сходный уровень белкового продукта.

Проведенный нами анализ полиморфизма промоторного региона гена IL-4RA50 у пациентов с длительной антигенемией вируса клещевого энцефалита позволил установить, что частота гетерозиготного варианта Val/Ile гена IL-4RA50 оказалась статистически значимо выше ($\chi^2 = 4,61$; $p < 0,05$; OR = 2,43), а гомозиготного Ile/Ile – ниже ($\chi^2 = 4,95$; $p < 0,05$; OR = 0,39), чем аналогичные показатели у здоровых людей (табл. 4). При этом, основываясь на значениях критерия отношения шансов (OR), можно предположить, что генотип Ile/Ile является протективным фактором в условиях длительной антигенемии вируса клещевого энцефалита, а увеличение частоты гетерозигот-

ного варианта Val/Ile по сравнению с аналогичными параметрами у здоровых лиц указывает на его положительную ассоциацию с длительной персистенцией вируса КЭ в организме.

Таким образом, в настоящем исследовании нашло подтверждение предположение о дисбалансе продукции и рецепции IL-2 и IL-4 (цитокинов Th1/Th2-типов, соответственно) с превалированием медиатора Th2-пути иммунного ответа у пациентов с длительной антигенемией вируса КЭ, что, вероятно, играет одну из ключевых ролей в иммунопатогенезе заболевания. В целом, представленные данные раскрывают новые горизонты в необходимости углубленного изучения механизмов продукции, рецепции цитокинов, а также трансдукции полученных от них сигналов активации при хронической вирусной инфекции путем применения иммуногенетических методологических подходов.

В статье приводятся результаты исследований, выполненных в рамках Федеральной целевой

ТАБЛИЦА 4. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕНОТИПОВ И АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА IL-4RA50 [% (абс.)] СРЕДИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И ПАЦИЕНТОВ С ДЛИТЕЛЬНОЙ АНТИГЕНЕМИЕЙ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Регистрируемый показатель	Характеристика обследованных		χ^2	OR (95% CI)
	Здоровые доноры	Пациенты с длительной антигенемией вируса клещевого энцефалита		
Val/Val	8,34 (4)	8,57 (6)	0,08 p > 0,05	1,03 (0,24-4,67)
Val/Ile	39,58 (19)	61,43 (43)	4,61 p < 0,05	2,43 (1,07-5,54)
Ile/Ile	52,08 (25)	30,00 (21)	4,95 p < 0,05	0,39 (0,17-0,90)
Val	0,28 (27)	0,39 (55)	2,66 p > 0,05	1,65 (0,91-3,01)
Ile	0,72 (69)	0,61 (85)		

научно-технической программы (Государственные контракты № 02.445.11.7110, № 02.445.11.7419 и № 02.512.11.2040), а также при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для поддержки ведущих научных школ Российской Федерации № НШ-4153.2006.7.

Список литературы

1. Ивашкин В.Т., Мамаев С.Н., Буеверов А.О., Шутьпекова Ю.О. Взаимодействие вирусов гепатита В и С с клетками иммунной системы макроорганизма // Клинич. лаб. диагностика. — 2001. — № 7. — С. 45-48.
2. Рахманова А.Г., Неверов В.А., Кирпичникова Г.И., Кузнецов Т.П., Демиденко Т.П., Ремезов А.П., Степанова Е.В. Вирусные гепатиты. — Новосибирск: «Вектор-Бест», 2003. — 58 с.
3. Жукова Н.Г. Клещевой энцефалит (этиология, эпидемиология, клиника, диагностика, лечение, профилактика). — Томск, 1999. — 48 с.
4. Жукова О.Б., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Вирусная персистенция: иммунологические и молекулярно-генетические аспекты // Бюллетень сибирской медицины. — 2003. — № 4. — С. 113-119.
5. Злобин В.И., Горин О.З. Клещевой энцефалит. — Новосибирск: «Наука», 2003. — 150 с.
6. Иерусалимский А.П. Клещевой энцефалит. — Новосибирск, 2001. — 321 с.
7. Кашкин К.П. Иммунологические исследования в клинике инфекционных заболеваний // Новости прикладной иммунологии и аллергологии. — 2004. — № 8. — С. 1-10.
8. Кондратьев В.П. Эпидемическая ситуация по клещевому энцефалиту // Мед. паразитология и паразитар. болезни. — 1998. — № 1. — С. 52-53.
9. Коненков В.И., Смольникова М.В. Полиморфизм промоторных регионов генов IL-4 и 10, TNF- α у ВИЧ-инфицированных // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2000. — № 9. — С. 80-83.
10. Леонова Г.Н., Майстровская О.С. Антигенемия у людей, инфицированных вирусом клещевого энцефалита // Вопр. вирусологии. — 1996. — № 5. — С. 224-228.
11. Маянский А.Н., Бурков А.Н., Астафьев Д.Г., Россанов С.П. Персистенция вирусов: иммунологические и патогенетические аспекты // Клинич. медицина. — 1998. — № 12. — С. 19-25.
12. Наследникова И.О., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Молекулярные механизмы противовирусной стратегии организма. — Томск: Издательство Томского университета, 2005. — 128 с.
13. Онищенко Г.Г. Заболеваемость клещевым энцефалитом в Российской Федерации // Материалы расширенного Пленума Проблемной Комиссии «Клещевой энцефалит и другие вирусные энцефалиты» РАМН. — М., 2003. — С. 5-6.
14. Мельникова А.П., Пирогова Н.П., Михайлова О.В., Карпова М.Р., Буров О.В., Козлов В.Г., Новицкий В.В. Особенности фагоцитарной активности лейкоцитов периферической крови у больных клещевым энцефалитом // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2002. — Прил. 1. — С. 82-85.
15. Пирогова Н.П., Новицкий В.В., Карпова М.Р., Рязанцева Н.В., Мельникова А.П., Михайлова О.В., Буров О.В. Фагоцитарные функции крови у больных острым клещевым энцефалитом // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2003. — № 1. — С. 83-85.
16. Ратникова Л.И. Современные представления о патогенезе клещевого энцефалита // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2002. — № 5. — С. 41-46.
17. Рязанцева Н.В., Жукова О.Б., Новицкий В.В., Пирогова Н.П., Лепехин А.В., Токарева Н.В., Михайлова О.В. Структурные и функциональные особенности лимфоцитов у пациентов с хроническим носительством антигена вируса клещевого энцефалита // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2002. — № 11. — С. 547-550.
18. Сенников С.В., Силков А.Н., Козлов В.А. Аллельные варианты и изоформы цитокинов в диагностике и патогенезе иммунопатологических состояний // Иммунология. — 2002. — № 4. — С. 243-250.
19. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции // Цитокины и воспаление. — 2004. — Т. 3, № 2. — С. 16-21.
20. Фрейдлин И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции // Иммунология. — 2001. — № 5. — С. 4-15.
21. Шаповал А.И. Клещевой энцефаломиелит. — М.: Медицина, 1980. — 342 с.
22. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и при патологии // Иммунология. — 1997. — № 5. — С. 7-13.
23. Ahmed R., Morrison L.A., Knipe D.M. Persistence of virus // Fields Virology / Ed. by B.N. Fields, D.M. Knipe, P.M. Howley, R.M. Chanock, J.L. Melnick, T.P. Monath, B. Roizman, S.E. Straus. — 3rd ed. — Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1996. — P. 219-249.
24. Atrasheuskaya A.V., Fredeking T.M., Ignatyev G.M. Changes in immune parameters and their correction in human cases of tick-borne encephalitis // Clin. Exp. Immunol. — 2003. — Vol. 1. — P. 148-154.
25. Ben-Ari Z., Mor E., Papo O., Kfir B., Sulkes J., Tambur A.R., Tur-Kaspa R., Klein T. Cytokine gene polymorphisms in patients infected with

hepatitis B virus // Am. J. Gastroenterol. – 2003. – Vol. 1. – P. 144-150.

26. Fresno M., Kopf M., Rivas L. Cytokines and infectious disease // Imm. Today. – 1997. – Vol. 18, N 2. – P. 56-58.

27. de Villiers W.J., Fraser I.P. Cytokine and growth factor regulation of macrophage scavenger receptor expression and function // Immunol. Lett. – 1994. – Vol. 43, N 1-2. – P. 73-79.

28. Hayasaka D., Ivanov L. Distribution and characterization of tick-borne encephalitis viruses from Siberia and Far-Eastern Asia // J. Gen. Virol. – 2001. – Vol. 2, N 6. – P. 1319-1328.

*поступила в редакцию 07.08.2007
отправлена на доработку 20.08.2007
принята к печати 14.03.2008*