ИЗУЧЕНИЕ ИММУНОРЕГУЛЯТОРНОЙ ФУНКЦИИ НАТУРАЛЬНЫХ КИЛЛЕРОВ В ПРОЦЕССЕ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ВИРУСОМ ПТИЧЬЕГО ГРИППА

Шатунова П.О.[1, 2], Гаврилова М.В.[2], Ртищев А.А.[2], Колыганова Т.И.[1, 2], Зайцева Т.А.[1], Маркушин С.Г.[2]

[1] ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия
[2] ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия

Резюме. Вирус птичьего гриппа обладает большим пандемическим потенциалом не только среди животных, но и в человеческой популяции. Для успешной борьбы с данным вирусом важное значение приобретает изучение иммунного ответа против вируса гриппа птиц и, в частности, особенности Т-клеточного иммунитета. Известно, что в период раннего иммунного ответа, когда активации факторов адаптивного иммунитета еще не произошло, ключевую роль в борьбе с вирусом гриппа играют натуральные киллеры, которые обладают как цитотоксическими, так и иммунорегуляторными функциями. В данной работе изучается взаимодействие между натуральными киллерами и Т-хелперами в процессе борьбы с патогеном.

Цель исследования – изучение иммунорегуляторной функции натуральных киллеров у мышей линии BALB/c, инфицированных различными дозами вируса гриппа птиц.

В работе использовали штамм вируса птичьего гриппа серотипа H5N2 (A/duck/Pennsylvania/10218/1984), адаптированного к мышам. Определение титра вируса в легочной ткани мышей осуществлялось путем заражения 10-дневных куриных эмбрионов (SPF) легочными экстрактами в различных десятичных разведениях с последующей постановкой реакции агглютинации. Определение численности натуральных киллеров и Т-хелперов в селезеночной ткани мышей проводилось методом проточной цитометрии.

При низкой инфекционной дозе (2,5 $ЭИД_{50}$) наблюдалось повышение количества Т-хелперов в селезенке мышей, что свидетельствовало о клональной экспансии данной субпопуляции. При этом инфекционнный процесс заканчивался полной элиминацией вируса в легких. При увеличении дозы вируса (25 $ЭИД_{50}$) также отмечалось увеличение субпопуляции Т-хелперов, но в легких продолжалось размножение вируса. При инфицировании высокой дозой вируса (250 $ЭИД_{50}$) наблюдалось снижение

Адрес для переписки:

Шатунова Полина Олеговна
ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ
115088, Россия, Москва, ул. 1-я Дубровская, 15.
Тел.: 8 (910) 294-11-78.
E-mail: shatunova_p_o@staff.sechenov.ru

Address for correspondence:

Polina O. Shatunova
I. Sechenov First Moscow State Medical University
15 1st Dubrovskaya St
Moscow
115088 Russian Federation
Phone: +7 (910) 294-11-78.
E-mail: shatunova_p_o@staff.sechenov.ru

Образец цитирования:

П.О. Шатунова, М.В. Гаврилова, А.А. Ртищев, Т.И. Колыганова, Т.А. Зайцева, С.Г. Маркушин «Изучение иммунорегуляторной функции натуральных киллеров в процессе инфекции, вызванной вирусом птичьего гриппа» // Медицинская иммунология, 2023. Т. 25, № 6. С. 1363-1370.
doi: 10.15789/1563-0625-IFO-2600

© Шатунова П.О. и соавт., 2023
Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

P.O. Shatunova, M.V. Gavrilova, A.A. Rtishchev, T.I. Kolyganova, T.A. Zaytseva, S.G. Markushin "Immunoregulatory functions of natural killer cells in avian influenza virus infection", Medical Immunology (Russia)/ Meditsinskaya Immunologiya, 2023, Vol. 25, no. 6, pp. 1363-1370.
doi: 10.15789/1563-0625-IFO-2600

© Shatunova P.O. et al., 2023
The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-IFO-2600

количества относительно контрольной группы мышей. В легочной ткани отмечалась репликация вируса гриппа птиц на протяжении всего периода наблюдений.

Можно предположить, что снижение численности Т-хелперов при инфицировании высокой дозой вируса обусловлено иммунорегуляторной активностью натуральных киллеров, которые элиминируют «истощенные» Т-хелперы, формирующиеся в условиях повышенной антигенной стимуляции. Этот факт свидетельствует о важности иммунорегуляторной функции натуральных киллеров в сохранении баланса между адекватным уничтожением патогена и избыточным воспалением в легочной ткани в процессе инфекции, вызванной вирусом птичьего гриппа.

Ключевые слова: натуральные киллеры, Т-хелперы, Т-лимфоциты, иммунорегуляция, истощение Т-лимфоцитов, грипп, вирус гриппа птиц

IMMUNOREGULATORY FUNCTIONS OF NATURAL KILLER CELLS IN AVIAN INFLUENZA VIRUS INFECTION

Shatunova P.O.[a, b], Gavrilova M.V.[b], Rtishchev A.A.[b], Kolyganova T.I.[a, b], Zaytseva T.A.[a], Markushin S.G.[b]

[a] *I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation*
[b] *I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*

Abstract. The avian influenza virus (AIV) has a great pandemic potential both in animals, and in human population. For effective struggle against this virus, it is important to study the immune response against AIV, and, in particular, the features of T cell immunity. At the period of early immune response, when the activation of adaptive immunity factors has not yet occurred, the natural killers, which have both cytotoxic and immunoregulatory functions, are known to play a key role in the fight against the influenza virus. In this study, we investigated the interaction between natural killers and T helpers in the process of antiviral response. The aim of this study was to study immunoregulatory functions of NK cells in BALB/c mice vaccinated with different doses of avian influenza virus.

We used a strain of mouse-adapted avian influenza virus (AIV) of the H5N2 serotype (A/duck/Pennsylvania/10218/1984). The determination of the virus titer in the mice lung tissue was performed by infecting 10-day-old chicken embryos (SPF) with lung extracts at various decimal dilutions, followed by the immune agglutination test. Quantitative determination of natural killers and T helpers (Th) in the mice spleen tissue was carried out by flow cytometry. The amount of Th cells in mice spleens increased at low infectious dose (2.5 EID_{50}) which is explained by active clonal expansion of this cell subpopulation. The infectious disease process ended upon complete virus elimination from the lungs. The amounts of Th cells were also increased in a group of mice infected with intermediate infectious dose (25 EID_{50}), however, being accompanied by virus replication in lungs. When the mice were infected with a high dose of the virus (250 EID50), there was a decrease in the Th cells number *versus* control group of animals, whereas replication of AIV was noted throughout the entire observation period in the lung tissue.

The amounts of helper T cells at high doses of viral infection could be decreased due to activation of NK cells. The activated NK cells may then eliminate exhausted helper T cells. Thus, NK cells immunoregulatory function represents an important immunological factor which keeps balance between the pathogen destruction and excessive inflammation of the lung tissue affected by the avian influenza virus.

Keywords: natural killer cells, helper T cells, immunoregulation, T cell exhaustion, influenza, avian influenza virus

Исследование выполнено с использованием научного оборудования центра коллективного пользования НИИВС им. И.И. Мечникова – при финансовой поддержке проекта Российской Федерацией в лице Минобрнауки России. Соглашение № 075-15-2021-676 от 28.07.2021.

Введение

Вирус гриппа птиц наносит большой ущерб экономике многих стран, вызывая вспышки птичьего гриппа в птицеводческих хозяйствах. В последние годы вирус многократно проникал в человеческую популяцию, вызывая заболева-

ния людей, сопровождающиеся летальным исходом [2]. Учитывая эти данные, не будет преувеличением сказать, что данный вирус обладает большим пандемическим потенциалом [9].

Естественно, что для успешной борьбы с данным вирусом важное значение приобретает изучение иммунного ответа против вируса гриппа птиц и, в частности, особенности Т-клеточного иммунитета [7]. Известно, что в период раннего иммунного ответа, когда активации факторов адаптивного иммунитета еще не произошло, важную роль в борьбе с вирусом гриппа играют натуральные киллеры, которые обладают как цитотоксическими, так и иммунорегуляторными функциями [5]. Было показано, что натуральные киллеры способны действовать в качестве регулятора адаптивного иммунного ответа при вирусных инфекциях [8]. В исследовании, проведенном на модели мышей, инфицированных вирусом лимфоцитарного хориоменингита [12], было выявлено три вектора (варианта) иммунной защиты от патогена в зависимости от дозы заражения. В данной работе мы попытались исследовать влияние иммунорегуляторной функции натуральных киллеров у мышей, инфицированных различными дозами вируса гриппа птиц, на исход адаптивного иммунного процесса.

Материалы и методы

Мыши

Экспериментальные животные – инбредные мыши линии BALB/c, самки массой 16-18 г, полученные из питомника «Андреевка» (Московская обл., Россия). Все эксперименты выполнены в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу №755 Министерства Здравоохранения СССР от 12.08.1977 г.) и «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» от 18 марта 1986 г. На проведение исследования получено разрешение этического комитета ФГБНУ НИИ ВС им. И.И. Мечникова.

Инфицирование мышей

Мыши были разделены на 4 испытуемые группы. Особей из первой группы инфицировали интраназально под легким эфирным наркозом вирусом с инфекционным титром 2,5 $ЭИД_{50}$/50 мкл (группа № 1). Мышей из второй группы инфицировали вирусом с титром 25 $ЭИД_{50}$/50 мкл (группа № 2). Мышам из третьей группы интраназально вводили 250 $ЭИД_{50}$/50 мкл вируса (группа № 3). Четвертая группа была контрольной, мышам интраназально вводили по 50 мкл физиологического раствора. Животных выводили из эксперимента в соответствии с Правилами лабораторной практики в Российской Федерации (GLP) от 1 апреля 2016 г. Учет результатов проводили на 3-и, 7-е и 14-е сутки.

Вирусы

В работе был использован штамм вируса птичьего гриппа A/duck/Pennsylvania/10218/1984 серотипа H5N2, адаптированный к мышам [10]. Вирус был получен из коллекции вирусов «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Определение вирусной нагрузки в легких мышей

На 3-й, 7-й и 14-й день после интраназальной инфицирования мышей усыпляли, взвешивали на лабораторных весах и извлекали легочную ткань. Из легочной ткани готовили 10%-ную суспензию в ступках с тертым стеклом. Титр вируса в легких определяли путем заражения 10-дневных куриных эмбрионов (SPF), полученных из питомника ФГБУ СГЦ «Загорское ЭПХ» ВНИТИП (г. Сергиев Посад, Московская область, Россия), легочными экстрактами в объеме 0,2 мл на эмбрион в различных десятичных разведениях. После 48-часовой инкубации при 37 °C аллантоисная жидкость использовалась для постановки реакции гемагглютинации.

Проточная цитометрия

В качестве источника лимфоцитов использовалась селезенка. Для извлечения клеток из селезеночной пульпы применялся пестиковый микробиологический гомогенизатор (Schuett Biotec, Германия). После получения пула лимфоцитов проводился подсчет клеток в камере Горяева в присутствии красителя трипанового синего. Для дальнейшей работы допускалась клеточная суспензия с содержанием живых клеток не менее 95%. Для выявления субпопуляции Т-хелперов мыши использовали антитела к CD3 (клон 17A2), меченные FITC, и CD4 (клон GK1.5), меченные PE (eBioscience™, США). Содержание NK-клеток мыши определяли при помощи антител к CD49b (клон DX5), меченные PE (Sony, США). 10^6 клеток селезенки инкубировали с флуоресцентными антителами в PBS с 1% BSA 30 мин при +4 °C. После чего клетки отмывали PBS с 1% BSA и фиксировали 1% ПФА (Thermo Fisher Scientific, США) 30 мин при +4 °C. В качестве контроля использовали неокрашенные клетки селезенки. Проточную цитометрию проводили на Beckman Coulter EPICS XL; результаты анализировали с помощью SYSTEM II (Beckman Coulter, США).

Статистическая обработка данных

Полученные данные анализировались с помощью программного обеспечения OriginPro 9.1 (OriginLabCorporation). Результаты для каждой группы экспериментальных животных выражали как среднее S образца / S порога ± стандартное отклонение (σ). Для сравнения результатов, полученных при разных условиях эксперимента,

использовался критерий Манна–Уитни. Величина $p \leq 0,05$ рассматривалась как статистически значимая.

Результаты

Динамика изменения количества NK-клеток ($CD3^-CD49b^+$) в селезеночной ткани мышей, инфицированных различными дозами вируса гриппа птиц

Количество натуральных киллеров в селезенке мышей колебалось в пределах 5,5-6,2% (рис. 1). У мышей, инфицированных низкой дозой вируса (2,5 $ЭИД_{50}$), наблюдалось постепенное снижение числа натуральных киллеров на протяжении всего процесса наблюдения. На 3-й день после инфицирования мы наблюдали значительное падение (приблизительно на 2,3% по сравнению с контролем), на 7-й день количество NK-клеток равнялось 2,8% и на 14-й день после инфицирования достигло 1,8%.

У мышей, инфицированных средней (25 $ЭИД_{50}$) и высокой (250 $ЭИД_{50}$) дозой вируса, также наблюдалось снижение числа натуральных киллеров с 1-го по 3-й день после инфицирования до 2,8-3,4% (рис. 2, 3) с последующим подъемом между 3-м и 7-м днями наблюдения (до количества 4,8-5,6% у групп средней и высокой дозы соответственно), затем отмечалось снижение NK-клеток до количества 1,5-1,7% к 14-му дню после инфекции.

Динамика изменения количества Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) в селезеночной ткани мышей, инфицированных различными дозами вируса гриппа птиц

Количество Т-хелперов в селезеночной ткани мышей контрольной группы равнялось 18,7%. Как видно из рисунка 4, в группе мышей, инфицированных низкой дозой вируса (2,5 $ЭИД_{50}$), регистрировалось снижение численности Т-хелперов на 3-й день (16%), а затем наблюдалось увеличение количества Т-хелперов после 7-го дня после инфекции относительно мышей из контрольной группы, что можно объяснить клональной экспансией данной субпопуляции. Количество Т-хелперов на 7-й день равнялось 18,8% (рис. 4). Далее наблюдалось повышение количества Т-хелперов на 5,3% к 14-му дню относительно 7-го дня (рис. 4).

На раннем этапе инфекции у мышей, инфицированных средней дозой вируса (рис. 5), наблюдалось резкое снижение количества Т-хелперов (на 10%), которое сменилось повышением с 3-го дня после начала инфекционного процесса и продолжалось до окончания наблюдения, достигая количества 25% клеток.

Другая картина динамики изменения числа Т-хелперов наблюдалось у мышей, инфицированных высокой инфекционной дозой вируса (рис. 6). Было отмечено формирование пика количества Т-хелперов к 3-му дню после начала инфекционного процесса (22%) с последующим резким снижением до значений, которые были ниже относительно контрольной группы (16,8%). К 14-му дню количество Т-хелперов повышалось до 18,6%.

Репликация вируса гриппа птиц в легких мышей, инфицированных различными дозами вируса гриппа птиц

Как видно из таблицы 1, при инфицировании мышей низкими инфекционными дозами штамма A/duck/Pennsylvania/10218/1984 (H5N2) наблюдается слабое размножение вируса в легких на 3-й день после начала инфекционного процесса. В последующие дни размножение вируса не регистрировалось.

При инфицировании мышей средними и высокими дозами вируса в легких наблюдалось слабое или умеренное размножение вируса птичьего гриппа на протяжении всего срока наблюдения (табл. 1).

ТАБЛИЦА 1. ВИРУСНАЯ НАГРУЗКА В ЛЕГКИХ МЫШЕЙ, $p \leq 0,05$

TABLE 1. VIRAL LOAD IN IN MICE LUNGS, $p \leq 0.05$

Группа Group	**Вирусная нагрузка в легких мышей, $ЭИД_{50}$** Viral load in mice lungs, EID_{50}		
	3-й день после инфицирования 3rd day after infection	**7-й день после инфицирования** 7th day after infection	**14-й день после инфицирования** 14th day after infection
Группа № 1 (2,5 $ЭИД_{50}$) Group No. 1 (2,5 EID_{50})	10^1	$< 10^1$	$< 10^1$
Группа № 2 (25 $ЭИД_{50}$) Group No. 2 (25 EID_{50})	4×10^1	3×10^1	3×10^1
Группа № 3 (250 $ЭИД_{50}$) Group No. 3 (250 EID_{50})	$1,5 \times 10^1$	10^2	10^2
Контрольная группа Control group	$< 10^1$	$< 10^1$	$< 10^1$

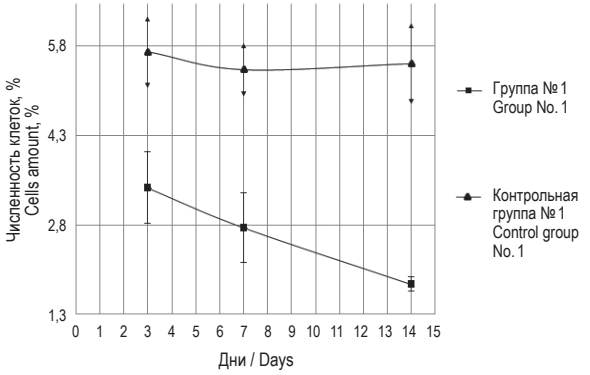

Рисунок 1. Изменение количества натуральных киллеров при низкой инфекционной дозе относительно контрольной группы, p ≤ 0,05

Figure 1. Changes in the natural killer cells number at low infectious dose versus the control group, p ≤ 0.05

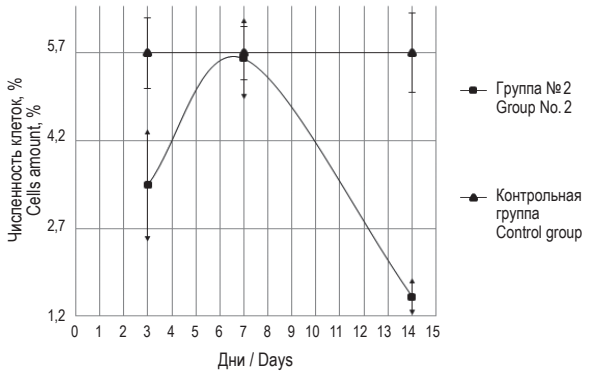

Рисунок 2. Изменение количества натуральных киллеров при средней инфекционной дозе относительно контрольной группы, p ≤ 0,05

Figure 2. Changes in the natural killer cells number at medium infectious dose versus the control group, p ≤ 0.05

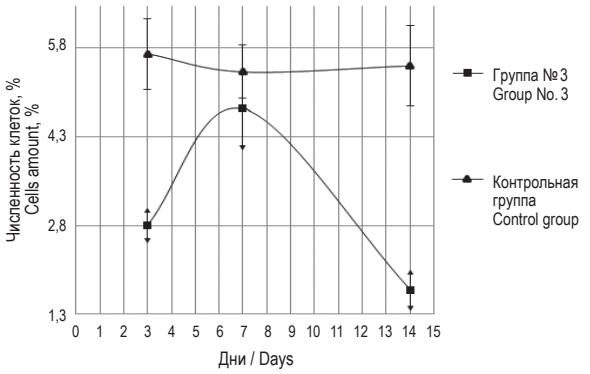

Рисунок 3. Изменение количества натуральных киллеров при высокой инфекционной дозе относительно контрольной группы, p ≤ 0,05

Figure 3. Changes in the natural killer cells number at high infectious dose versus the control group, p ≤ 0.05

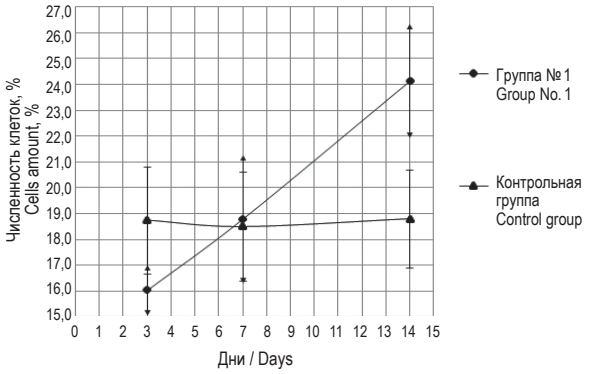

Рисунок 4. Изменение количества Т-хелперов при низкой инфекционной дозе относительно контрольной группы, p ≤ 0,05

Figure 4. Changes in the Th cells number at low infectious dose versus the control group, p ≤ 0.05

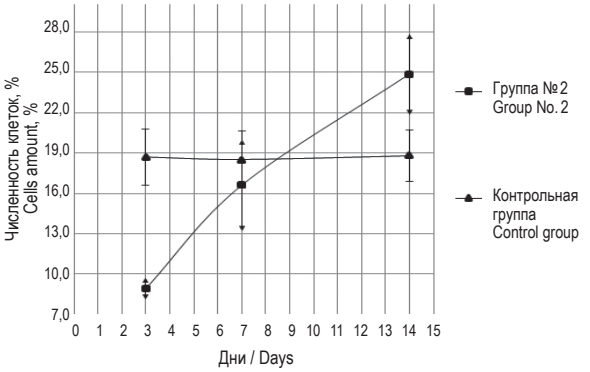

Рисунок 5. Изменение количества Т-хелперов при средней инфекционной дозе относительно контрольной группы, p ≤ 0,05

Figure 5. Changes in the Th cells number at medium infectious dose versus the control group, p ≤ 0.05

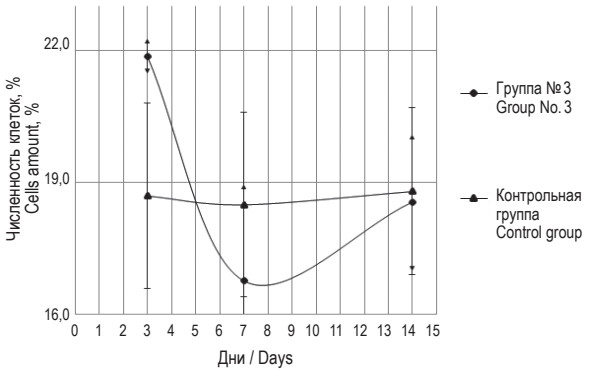

Рисунок 6. Изменение количества Т-хелперов при высокой инфекционной дозе относительно контрольной группы, p ≤ 0,05

Figure 6. Changes in the Th cells number at high infectious dose versus the control group, p ≤ 0.05

ТАБЛИЦА 2. ИЗМЕНЕНИЕ МАССЫ ТЕЛА МЫШЕЙ, p ≤ 0,05

TABLE 2. THE CHANCE OF MICE BODY MASS, p ≤ 0.05

	Масса тела, группа № 1 (2,5 ЭИД$_{50}$), г Body mass, group No. 1 (2,5 EID_{50}), g	**Масса тела, группа № 2 (25 ЭИД$_{50}$), г** Body mass, group No. 2 (25 EID_{50}), g	**Масса тела, группа № 3 (250 ЭИД$_{50}$), г** Body mass, group No. 3 (250 EID_{50}), g	**Масса тела, контрольная группа, г** Body mass, control group, g
3-й день после инфицирования 3rd day after infection	17,36±0,72	16,25±0,52	16,21±0,20	18,40±0,28
7-й день после инфицирования 7th day after infection	17,66±1,47	18,47±0,15	17,07±0,05	18,90±0,86
14-й день после инфицирования 14th day after infection	16,66±1,50	17,03±1,37	17,07±1,10	19,32±0,50

Одновременно нами было исследовано изменение массы тела у инфицированных мышей на 3-й, 7-й и 14-й день после заражения. Как видно из таблицы 2, у мышей, инфицированных низкой дозой вируса, наблюдалось невысокая потеря веса в период с 7-го по 14-й день. У мышей, инфицированных высокой и средней дозами вируса, была отмечена незначительная потеря веса на 14-й день после заражения.

Обсуждение

Штамм A/duck/Pennsylvania/10218/1984 (H5N2) вируса птичьего гриппа по нашим наблюдениям обладал высокой летальностью для мышей [1]. Поэтому нами были выбраны невысокие инфекционные дозы для заражения мышей, позволяющие наблюдать размножение в легких, но исключающие быструю гибель животных.

На раннем этапе инфекции у мышей, инфицированных различными дозами вируса птичьего гриппа, наблюдалось снижение количества натуральных киллеров в селезенке (рис. 1, 2, 3), что, по-видимому, свидетельствует о миграции данной субпопуляции в очаг воспаления [3], а также о супрессивном влиянии вируса на иммунотропные клетки [4]. Появление пика количества натуральных киллеров к 7-му дню для групп средней и высокой инфекционных доз (рис. 2, 3) обусловлено высокой пролиферативной активностью натуральных киллеров в условиях высокой антигенной стимуляции. Предполагается, что снижение количества NK-клеток при низкой дозе на 7-й день, а также на 14-й день во всех трех группах мышей относительно контрольной группы обусловлено миграцией натуральных киллеров в легочную ткань.

При заражении мышей в зависимости от дозы инфицирования наблюдалась различная динамика изменения количества Т-хелперов. Инфекционный процесс, вызванный низкой дозой вируса, протекал в виде типичной острой вирусной инфекции, которая заканчивалась полным выздоровлением животных (табл. 1). При этом отмечалась активная клональная экспансия Т-хелперов с 7-го дня после начала инфекционного процесса (рис. 4).

Как видно из рисунка 5, характер изменения количества Т-хелперов после 7-го дня наблюдения у мышей, инфицированных средней дозой вируса, сходен с характером изменения количества Т-хелперов при инфицировании низкой дозой.

При заражении мышей высокой дозой вируса мы не наблюдали клональной экспансии Т-хелперов, что можно объяснить элиминацией Т-хелперов натуральными киллерами. Мы предполагаем, что в данном случае наблюдается эффект истощения Т-лимфоцитов, именно такие клетки распознаются и лизируются натуральными киллерами [8].

Регуляторная функция NK-клеток тесно связана с антигенпрезентирующими клетками. При вирусных инфекциях натуральные киллеры активируются дендритными клетками при помощи цитокинов, в частности, принадлежащих к семейству IL-12 [13]. Воздействие данных цитокинов приводит к секреции NK-клетками IFNγ [1] – главного противовирусного цитокина. Снижение количества Т-хелперов может быть вызвано как прямым воздействием на Т-хелперы, так и косвенно, посредством влияния на ДК. В первом случае уничтожение Т-хелперов происходит из-за недостаточного количества рецепторов к IFNγ на их поверхности [8], что описано при истоще-

нии Т-клеток [6]. Опосредованное влияние натуральных киллеров на Т-хелперы заключается в элиминации ДК, что снижает презентацию антигена Т-хелперам и их последующую клональную экспансию [8].

Вероятно, при заражении мышей средней дозой вируса эффект «истощения» развивается слабо или не развивается вовсе, но предполагается, что такое течение инфекции более губительно для организма. Высокая антигенная стимуляция Т-клеток приводит к бесконтрольной аутоагрессии и, как следствие, становится причиной наиболее тяжелых осложнений после гриппа даже при сравнительно невысокой вирусной нагрузке. Возможно, сильную деструкцию легочной ткани вызывают в большей мере активированные клетки иммунной системы, чем вирус гриппа [11]. Элиминация Т-хелперов натуральными киллерами не помогает бороться с вирусом, однако играет существенную роль в снижении патологического воспаления и перехода воспалительного процесса в хроническую форму.

Заключение

Таким образом, иммунорегуляторная функция натуральных киллеров играет важную роль в формировании иммунного ответа при борьбе с инфекцией, вызванной вирусом гриппа птиц у млекопитающих. Уничтожая истощенные Т-лимфоциты, натуральные киллеры препятствуют развитию хронической инфекции и способствуют выживанию только тех клеток, которые способны оказывать сильное противовирусное действие, что в конечном счете приводит к успешной элиминации патогена и выздоровлению организма.

Благодарности

Авторы выражают благодарность коллективу лаборатории биосинтеза иммуноглобулинов НИИВС им. И.И. Мечникова за помощь в проведении экспериментов.

Список литературы / References

1. Кост В.Ю., Ртищев А.А., Минтаев Р.Р., Акопова И.И., Лисовская К.В., Маркушин С.Г. Изучение биологических свойств аттенуированных вариантов штамма A/WSN/33, полученных с помощью сайт-специфического мутагенеза PB2-гена // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, 2019. Т. 96, № 2. С. 68-76. [Kost V.Yu., Rtischev A.A., Mintaev R.R., Akopova I.I., Lisovskaya K.V., Markushin S.G. Study of the biological properties of attenuated variants of the virulent A/WSN/33 strain of influenza virus, obtained by the site-specific mutagenesis of PB2-gene. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology, 2019, Vol. 96, no. 2, pp. 68-76.* (In Russ.)]

2. Das Gupta S., Barua B., Fournié G., Hoque M.A., Henning J. Village and farm-level risk factors for avian influenza infection on backyard chicken farms in Bangladesh. *Sci. Rep., 2022, Vol. 12, no. 1, 13009.* doi: 10.1038/s41598-022-16489-5.

3. Gismondi A., Santoni A. Migration of NK cells. *Lymphocyte Trafficking in Health and Disease, 2006, pp. 95-112.*

4. Hale B.G., Albrecht R.A., García-Sastre A. Innate immune evasion strategies of influenza viruses. *Future Microbiol., 2010, Vol. 5, no. 1, pp. 23-41.*

5. Jost S., Altfeld M. Control of human viral infections by natural killer cells. *Annu Rev. Immunol., 2013, Vol. 31, pp. 163-194.*

6. Kahan S.M., Wherry E.J., Zajac A.J. T cell exhaustion during persistent viral infections. *Virology, 2015, Vol. 479-480, pp. 180-193.*

7. Kreijtz J.H., Fouchier R.A., Rimmelzwaan G.F. Immune responses to influenza virus infection. *Virus Res., 2011, Vol. 162, no. 1-2, pp. 19-30.*

8. Pallmer K., Oxenius A. Recognition and regulation of T cells by NK cells. *Front. Immunol., 2016, Vol. 7, 251.* doi: 10.3389/fimmu.2016.00251.

9. Sims L.D., Ellis T.M., Liu K.K., Dyrting K., Wong H., Peiris M., Guan Y., Shortridge K.F. Avian influenza in Hong Kong 1997-2002. *Avian Dis., 2003, Vol. 47, 3 Suppl., pp. 832-838.*

10. Smirnov Y.A., Lipatov A.S., van Beek R., Gitelman A.K., Osterhaus A.D., Claas E.C. Characterization of adaptation of an avian influenza A (H5N2) virus to mammalian host. *Acta Virol., 2000, Vol. 44, no. 1, pp. 1-8.*

11. Uyeki T.M., Hui D.S., Zambon M., Wentworth D.E., Monto A.S. Influenza. *Lancet, 2022, Vol. 400, no. 10353, pp. 693-706.*

12. Waggoner S.N., Cornberg M., Selin L.K., Welsh R.M. Natural killer cells act as rheostats modulating antiviral T cells. *Nature, 2011, Vol. 481, no. 7381, pp. 394-398.*

13. Zwirner N.W., Ziblat A. Regulation of NK cell activation and effector functions by the IL-12 family of cytokines: The case of IL-27. *Front. Immunol., 2017, Vol. 8, 25.* doi: 10.3389/fimmu.2017.00025

Авторы:

Шатунова П.О. *— ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммуннологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ; младший научный сотрудник лаборатории генетики РНК-содержащих вирусов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия*

Гаврилова М.В. *— к.б.н., научный сотрудник лаборатории биосинтеза иммуноглобулинов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия*

Ртищев А.А. *— младший научный сотрудник лаборатории генетики РНК-содержащих вирусов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия*

Колыганова Т.И. *— ассистент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ; младший научный сотрудник лаборатории физиологии грибов и бактерий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия*

Зайцева Т.А. *— к.м.н., старший преподаватель кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения РФ (Сеченовский университет), Москва, Россия*

Маркушин С.Г. *— д.м.н., старший научный сотрудник, заведующий лабораторией генетики РНК-содержащих вирусов ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», Москва, Россия*

Authors:

Shatunova P.O., *Assistant Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Junior Research Associate, Laboratory of Genetics of RNA Viruses, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*

Gavrilova M.V., *PhD (Biology), Research Associate, Laboratory of Biosynthesis of Immunoglobulins, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*

Rtishchev A.A., *Junior Research Associate, Laboratory of Genetics of RNA-Viruses, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*

Kolyganova T.I., *Assistant Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University); Junior Research Associate, Laboratory of Physiology of Fungi and Bacteria, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*

Zaytseva T.A., *PhD (Medicine), Senior Lecturer, Department of Microbiology, Virology and Immunology, I. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russian Federation*

Markushin S.G., *PhD, MD (Medicine), Senior Research Associate, Head, Laboratory of Genetics of RNA-Viruses, I. Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russian Federation*

Поступила 31.10.2022
Отправлена на доработку 07.11.2022
Принята к печати 16.02.2023

Received 31.10.2022
Revision received 07.11.2022
Accepted 16.02.2023