

Молекулярные и клеточные основы патогенеза клещевого энцефалита

Насырова Р.Ф., Рязанцева Н.В., Жукова Н.Г., Зима А.П., Жукова О.Б., Чечина О.Е., Лепехин А.В., Часовских Н.Ю., Новицкий В.В.

Molecular and cellular basis of pathogenesis of tick-borne encephalitis

Nasyrova R.F., Ryazantseva N.V., Zhoukova N.G., Zima A.P., Zhoukova O.B., Chenchina O.Ye., Lepyokhin A.V., Chasovskikh N.Yu., Novitsky V.V.

Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

© Насырова Р.Ф., Рязанцева Н.В., Жукова Н.Г. и др.

Особенности патогенеза персистенции вируса клещевого энцефалита и исход заболевания обусловлены сложным характером взаимодействия вируса и иммунной системы пациента. Одним из общих условий патогенетически значимой активации вируса является ослабление иммунорезистентности хозяина. В настоящем обзоре обсуждается роль модификации клеточной дифференцировки, межклеточной кооперации и цитогенетической нестабильности иммуноцитов, апоптоза как ведущих звеньев иммунопатогенеза клещевого энцефалита.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита, иммунная система, апоптоз, ДНК-репарация, цитокины.

Main features of pathogenesis of tick-borne encephalitis virus' persistense and outcome of the disease are determined by a complex character of interaction between the virus and immune system of a patient. One of the main terms of pathogenetically important virus activation is a low immune resistance of an organism. The current article discusses role of modification of cellular differentiation, intercellular cooperation and cytogenetic instability of immunocytes as well as apoptosis as leading features of immunopathogenesis of tick-borne encephalitis.

Key words: tick-borne encephalitis virus, immune system, apoptosis, DNA-reparation, cytokines.

УДК 616.988.25–002.954.2

Введение

Современный клинический облик клещевого энцефалита (КЭ) связан с длительным присутствием возбудителя в организме. Феномен пролонгированного пребывания чужеродного генетического материала вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) в зараженной клетке, несмотря на выраженный иммунологический ответ, является наиболее актуальным вопросом, безусловно, требующим дальнейшего углубленного изучения [4, 7, 8, 14, 37, 42].

В настоящее время не вызывает сомнений, что восприимчивость организма к инфекции определяется совокупностью нескольких факторов: патогенностью инфекционного агента, факторами окружающей среды и состоянием иммунной системы. Ведущую роль в цепи патофизиологических событий играют индуцирован-

ные возбудителем эндогенные реакции, реализующие иммунные и воспалительные механизмы. Возможность репликации ВКЭ, обуславливающей клинические проявления нейроинфекции, зависит от вирулентности вируса, жизнеспособности клетки-хозяина и состояния иммунной системы макроорганизма [7, 8, 18, 31, 49].

Несмотря на то, что современная медико-биологическая наука располагает обширными знаниями об этиологии и клинических проявлениях данной нейроинфекции, экспериментально-клиническое изучение патогенеза КЭ с применением современных молекулярно-биологических и иммунологических методов исследования остается на весьма низком уровне. Сегодня практически не проводятся исследования, касающиеся изучения динамики клеточно-гуморального иммунного ответа макроорганизма на данный патоген при различных клинических вариан-

тах течения инфекции, с прослеживанием индукции иммунорегуляторных и апоптозных медиаторов, что делает весьма актуальным дальнейшее изучение иммунопатогенеза КЭ.

Направленность клеточной дифференцировки иммуноцитов при клещевом энцефалите

Иммунная система является одной из основных (наряду с нервной и эндокринной) систем, участвующих в формировании стратегии функционирования организма в новых условиях. Как известно, в ответ на внедрение во внутреннюю среду организма вирусных антигенов срабатывают все механизмы иммунного ответа (врожденные и приобретенные), направленные на ограничение и элиминацию инфекции. В случае же внутриклеточного проникновения вирусов ведущую роль отводят реакциям клеточного иммунитета [5, 11, 22, 32].

При КЭ в организме человека в ответ на внедрение вируса происходит активация систем клеточного и гуморального иммунитета. Поражение органов иммунной системы является ведущим звеном патогенеза КЭ. При этом выраженная альтерация лимфоидных органов является следствием цитопатического действия ВКЭ. Установлено, что вирусиндуцированные изменения иммунной системы проявляются уже через 24 ч после инфицирования ВКЭ, отражаясь на функционировании как неспецифической, так и специфической резистентности организма [3, 7]. Иммунные механизмы играют существенную роль в патогенезе КЭ, обуславливая клинический полиморфизм заболевания, степень поражения нервной системы, а также исход патологического процесса.

Вирусная интервенция в разной степени ассоциируется с изменениями пула циркулирующих лейкоцитов, которые в большинстве случаев носят обратимый характер. При очаговой форме КЭ выявлена лимфопения, развитие нейтрофильного лейкоцитоза, усиление фагоцитоза, а также повышение общей гемолитической активности комплемента на фоне глубокой депрессии бласттрансформации лимфоцитов. При менингеальной форме КЭ была обнаружена активация фагоцитоза при отсутствии изменений числа лимфоцитов. Лабораторным проявлением лихорадочной формы КЭ явился лимфоцитоз [3, 9, 25].

Патогенетически значимые свойства ВКЭ связаны со способностью вирусов поражать лимфоциты и модулировать иммунный ответ хозяина, что приводит к развитию вторичного иммунодефицита, проявляющегося дисбалансом иммунных функций [1]. Центральной клеткой иммунной системы является лимфоцит, от функциональной активности которого зависит способность организма к полноценной реализации иммунного ответа. Было отмечено, что при КЭ возникают внутрипопуляционные изменения лимфоцитов. При остром КЭ относительное и абсолютное содержание Т-лимфоцитов в крови снижено. Функция В-лимфоцитов при острой инфекции не нарушена. Отмечены активная пролиферация В-клеток и двукратное повышение их содержания в периферической крови с нормализацией числа лимфоцитов к концу третьего месяца с момента инфицирования. Избирательное поражение Т-системы иммунитета при КЭ исследователи связывают с размножением вируса в тимусе, регулирующем процессы созревания, дифференцировки и функциональной активности Т-лимфоцитов. Выявленный факт, вероятно, является следствием изменения рецепторных структур Т-клеток, пораженных вирусом. При этом глубина вирусиндуцированной депрессии Т-клеточного иммунитета и ее продолжительность прямо коррелируют с тяжестью клинического течения острого КЭ [2].

Результаты иммунофенотипирования лимфоцитов периферической крови у пациентов с длительной антигемией ВКЭ, полученные нами ранее, отражают дефекты Т-клеточного звена иммунитета как в количественном, так и в качественном составе. Снижение численности CD4⁺-субпопуляции у обследованных пациентов демонстрирует недостаточный Т-клеточный пролиферативный ответ на антигены ВКЭ [26]. Ряд авторов указывают на развитие «клонального истощения» противовирусных Т-лимфоцитов в условиях вирусной персистенции со смещением иммунного баланса в сторону Th2 [22]. Выявленное в результате проведенного авторами исследования увеличение численности цитотоксических Т-лимфоцитов, несущих поверхностные молекулы CD8, у пациентов с длительной антигемией ВКЭ, с одной стороны, вероятно, объясняет снижение численности субпопуляции Th1-лимфоцитов. С другой стороны, активация СТЛ ввиду депрессии CD4⁺-клеток явно недостаточна. Кроме того, затруднение элиминации внутриклеточ-

ного инфекта посредством разрушения клеток макроорганизма может быть обусловлено инфицированностью CD8⁺-лимфоцитов ВКЭ, не способных полноценно выполнять киллерные функции [21, 22, 24, 36].

Трудно переоценить значимость вирусэлиминирующей способности NK-клеток (CD56). Уникальность литической активности CD56⁺-клеток против мишеневых клеток проявляется без предварительной сенсibilизации, которая требуется, например, Т-лимфоцитам для превращения их в специфические цитотоксические Т-клетки [31, 34, 39]. NK-клетки вносят вклад в реализацию каскада продукции цитокинов (INF α , INF γ , IL3, IL8, GM CSF), привлекающих новых участников противовирусной защиты [12, 14, 32, 34]. Так, при изучении активности NK-клеток при КЭ зарегистрировано раннее вовлечение в патологический процесс данного звена иммунной защиты [14, 26].

Главными (если не единственными) источниками специфических антител являются В-лимфоциты, обладающие выраженной аффинностью и вируснейтрализующим действием. Ряд авторов указывают на существенные изменения пролиферации В-лимфоцитов в периферической крови у больных КЭ [3, 14, 40, 45]. Установлено повышенное содержание В-лимфоцитов, в том числе и многорецепторных (авидных) клеток, в периферической крови в остром периоде болезни. При этом тяжесть течения инфекции коррелировала с уровнем В-клеток в крови и длительностью иммунологической реабилитации. На активное вовлечение В-звена в противовирусный иммунный ответ у обследованных пациентов с длительной антигенемией ВКЭ без клинических проявлений указывает выявленное повышение абсолютного числа CD22-позитивных лимфоцитарных клеток [14]. Интерпретируя этот факт, нельзя не отметить, что презентация антигена В-лимфоцитами изменяет соотношение Th1/Th2 при иммунном ответе в сторону преимущественного образования Th2-клеток [29].

Состояние системы фагоцитов при инфицировании вирусом клещевого энцефалита

Современные исследования в области патофизиологии иммунного ответа демонстрируют возможность дисрегуляции фагоцитарных реакций патогенными микроорганизмами [13, 19]. В экспери-

менте на изолированной культуре лейкоцитов человека показано, что ВКЭ не просто поглощается лейкоцитами (незавершенный фагоцитоз) [7, 8], но и репродуцируется, накапливается в лейкоцитарных клетках и выходит в плазму. Этот факт объясняет один из механизмов ранней вирусемии при данной нейроинфекции [24, 38].

Установлено, что в стадию виремии основная концентрация ВКЭ обнаруживается в крови в свободном состоянии, и лишь незначительная популяция вируса связана с лейкоцитами. В таких случаях механизм фагоцитоза обусловлен захватом макрофагами не вирусов, а зараженных ими клеток или фрагментов лейкоцитов. Как показали результаты исследований [3, 46], антигенные детерминанты структурного белка Е ВКЭ, являющегося основным в формировании противовирусного иммунного ответа, отвечают за агглютинационные свойства вируса и играют важную роль в его проникновении в клетку. Кроме того, получены данные, свидетельствующие о существовании рецептор-опосредованного механизма проникновения ВКЭ в клетки. Исследователи считают, что роль рецепторов для ВКЭ исполняют α_3 -интегрин и неинтегриновый ламининовый рецептор. Также предполагается, что сорбция и дальнейшее необратимое связывание вириона с клеткой в организме могут быть опосредованы С3-компонентом комплемента, а также Fc-детерминантой иммуноглобулинов [19, 41].

Все вирусы комплекса ВКЭ активно размножаются в цитоплазме и ядре лейкоцитов и макрофагов. При подавлении функциональной активности мононуклеарных фагоцитов отмечается более длительная и стабильная виремия [20, 28]. С помощью активированных макрофагов вирусный антиген представляется В- и Т-лимфоцитам в иммуногенной форме. Макрофаги секретируют иммунный INF-фактор, стимулирующий дифференцировку В-клеток в присутствии вирусного антигена. Эффекторные функции макрофагов, вирус-специфических антител обеспечивают разрушение вирионов и элиминацию из организма чужеродных антигенов. Однако в зависимости от чувствительности к действию ферментных систем фагоцитов штаммы ВКЭ являются биологически неоднородными и делятся на две группы: первую группу составляют легко инактивирующиеся макрофагами вирусы, вторую — резистентные к действию макрофагов возбудители. Некоторые вирусы второй группы способны к актив-

ной и длительной персистенции в макрофагах. Таким образом, макрофаги, персистентно инфицированные или являющиеся перmissive системой для ВКЭ, как предполагается, могут участвовать в процессе генерализации и сохранении вирусной инфекции в организме. В этом смысле макрофагальный барьер как защитная система не всегда эффективен [13].

Данное предположение нашло свое обоснование в исследовании Н.П. Пироговой и соавт. [20]. У больных лихорадочной и стертой формами КЭ во все периоды заболевания было выявлено снижение относительного числа Fc- и C3b-рецепторнесущих моноцитов/макрофагов. При этом фагоцитарная активность моноцитов у больных стертой и хронической формами КЭ имела тенденцию к угнетению. Интересен факт увеличения как фагоцитарной активности, так и экспрессии указанных рецепторов у пациентов с персистентным вирусноносительством.

Гуморальное звено иммунной системы в реализации противовирусного ответа

Общеизвестно, что гуморальный иммунный ответ обеспечивает продукцию противовирусных антител. Т-зависимый характер вирусных антигенов определяет участие в клеточной кооперации макрофагов, Т-хелперов и В-лимфоцитов, а также участие интерлейкинов, продуцируемых макрофагами и Т-хелперами [22, 33]. Среди антител, вырабатываемых в ответ на вирусные антигены, основную роль играют молекулы IgG, обладающие наиболее выраженной афинностью и вируснейтрализующим действием [27, 31, 32]. Нейтрализация вирусов антителами IgG может осуществляться по нескольким сценариям. Так, при взаимодействии с вирусами они вызывают стереохимические изменения структуры вирусного капсида, приводя к нарушению его конформационного соответствия клеточным рецепторам. Это влечет за собой нарушение связывания вируса с клеточной поверхностью, предотвращая тем самым его проникновение в клетку и последующую вирусную репликацию [22, 32].

Нейтрализация вирусов под действием антител IgG может осуществляться также путем блокады вирусных гемагглютининов, что предотвращает адсорбцию вирусных частиц на клеточной поверхности. Кроме того, IgG вызывает агрегацию вирусных частиц, препятствующую вирусной адсорбции на клеточных рецепторах. Обращает на себя внимание тот факт, что

нейтрализация вирусов под действием этих антител осуществляется только в отношении вирусных частиц, находящихся в межклеточном пространстве. Вирионы, располагающиеся внутри клеток, в большинстве случаев недоступны для антител [22, 29]. Однако при присоединении комплемента к комплексу антиген — антитело, экспрессированному на поверхности инфицированной клетки с последующей активацией, индуцирующей комплементзависимую цитотоксичность, возможен лизис инфицированной вирусом клетки [31].

В свою очередь, противовирусные антитела IgM могут вызывать непосредственное разрушение вирусных частиц путем активации комплемента по классическому пути. При этом IgM обладает и вируснейтрализующими свойствами [22, 24].

Иногда антитела не обеспечивают защитного эффекта, а даже, напротив, стимулируют инфекцию, обращая свое действие против клетки. IgG в составе NK-клеток может неспецифически связываться с клетками через рецепторы для Fc-фрагмента и обеспечивать тесный контакт между клеточной поверхностью и вирусной оболочкой, облегчая тем самым проникновение вируса в клетку, что характерно для флавивирусов [2]. В указанном аспекте особый интерес представляют исследования динамики синтеза различных классов специфических иммуноглобулинов у больных КЭ. Установлено, что длительная циркуляция IgM свидетельствует о дефекте системы Т-лимфоцитов, поскольку нарушение процесса переключения синтеза IgM на синтез IgG представляет собой Т-индуцируемое событие. Выявление специфических IgM в течение длительного времени может явиться следствием продолжающейся персистенции ВКЭ, что, вероятно, указывает на нарушение функций эффекторов клеточного иммунитета [3, 37]. Вместе с тем результаты исследований показывают, что персистенция ВКЭ в лимфоидных органах не нарушает функции антителообразования, хотя и вызывает дефект синтеза гемагглютининов [38].

Установлена индукция гуморального иммунного ответа как против структурных, так и против неструктурных белков ВКЭ в крови и в спинномозговой жидкости больных КЭ. Антитела к неструктурным белкам могут индуцироваться в результате разрушения инфицированных клеток в ходе инфекции и секреции инфицированными клетками. При этом корреляции между

наличием антител, специфичных к индивидуальным вирусным белкам или группе белков ВКЭ, и формой заболевания (лихорадочной, менингеальной или менингоэнцефалитической) не выявлялось. Это, вероятно, является показателем малой эффективности специфических антител в защите от инфекции [7, 8].

Таким образом, при КЭ существуют механизмы, реализующие уклонение ВКЭ от элиминирующего действия вируснейтрализующих антител и поддерживающие как репликативную, так и, несомненно, персистентную инфекции. В защите организма на ранней стадии вирусной инфекции приоритетное значение приобретает клеточный иммунитет.

Нарушения цитокинсекреторной способности и рецепторного аппарата лимфоцитов при инфицировании вирусом клещевого энцефалита

В иммунных реакциях организма, как известно, принимают участие несколько типов клеток, ведущими из которых являются В- и Т-лимфоциты. Физиологическим индуктором активации данных иммунокомпетентных клеток, сопряженной с выходом их в клеточный цикл и последующей дифференцировкой в эффекторные клетки, служит антигенная стимуляция. Экспрессия цитокинов Т-лимфоцитами является высокостимулируемым и многоуровневым процессом, реализующимся посредством стимуляторных и ингибиторных сигнальных механизмов [11, 33].

Общеизвестно, что активация Th1-лимфоцитов, сопряженная с продукцией ключевых цитокинов IFN γ , TNF α , IL2, -6, -12, усиливает клеточный иммунитет. Детерминация иммунного ответа по гуморальному типу осуществляется при доминирующем влиянии Th2-цитокинов, дискриминантными из которых являются IL4 и IL10 [11, 22, 33]. Согласно современным представлениям, дисбаланс цитокинового профиля при вирусных инфекциях, а также поляризация иммунного ответа по Th1- или Th2-пути имеют решающую роль в иммунопатогенезе персистентной вирусной инфекции [5, 14—16].

IL2 может действовать как аутокринно, так и паракринно, стимулируя пролиферацию и дифференцировку соседних Т-лимфоцитов, экспрессирующих IL2R. Кроме того, IL2 предохраняет активированные Т-лимфоциты от апоптоза, усиливает продукцию IFN γ ,

экспрессию протоонкогенов [30—32]. Проведенная авторами оценка способности мононуклеаров секретировать IL2 показала, что у пациентов с длительной персистенцией ВКЭ снижалась ФГА-индуцированная продукция данного цитокина, что демонстрирует истощение секреторного потенциала иммунокомпетентных клеток синтезировать этот провоспалительный цитокин [15].

Каскад событий, развивающихся в макроорганизме сразу же после инфицирования вирусами клеток, инициируется продукцией INF. При этом вирусы обладают способностью самостоятельно индуцировать систему INF, играющей роль естественных индукторов. По существующим на сегодняшний день представлениям, активация специфического противовирусного иммунного ответа с участием IFN γ как важного иммунорегуляторного цитокина с последующим уничтожением инфицированных клеток с помощью активированных Т-лимфоцитов является ключевым моментом противовирусной защиты макроорганизма [47, 48]. Доминирующую позицию среди неспецифических защитных противовирусных реакций иммунной системы занимает IFN γ [47]. Были получены результаты, демонстрирующие значительное повышение спонтанной и ФГА-стимулированной IFN γ -продуцирующей способности мононуклеаров у пациентов с бессимптомной персистенцией ВКЭ и с остаточными клиническими проявлениями КЭ [15, 16].

Исследование продукции TNF α мононуклеарными лейкоцитами выявило повышенную секрецию данного цитокина у больных лихорадочной формой клещевого энцефалита, однако индекс стимуляции цитокина при этом был снижен. У больных с хронической персистенцией ВКЭ снижалась ФГА-индуцированная продукция и индекс стимуляции TNF α [16, 19].

Функциональным антагонистом IFN γ при воздействии на макрофаги, Т-хелперы и В-лимфоциты выступает дискриминантный Th2-цитокин — IL4, обладающий выраженными противовоспалительными свойствами, стимулирующий преимущественно гуморальное звено иммунитета, способствуя дифференцировке Th0 по Th2-пути иммунного ответа [11, 31, 32]. Было отмечено возрастание базальной и ФГА-стимулированной продукции мононуклеарами IL4 у пациентов с длительной персистенцией вируса клещевого энцефалита. Однонаправленное повышение IL4-продуцирующей и IL4R-экспрессирующей способностей иммуноцитов

демонстрирует превалирование Th2-пути иммунного ответа в условиях длительного присутствия вирусного агента, вероятно, вызванное постоянной активацией лимфоцитов [16].

Весьма широким спектром иммунорегуляторных функций обладает IL6. К их числу относятся активация и пролиферации В-клеток, антителопродуцирующих плазматических клеток, стимуляция пролиферации Т-лимфоцитов, подавление продукции IL1 и TNF α [29, 31, 44]. Нельзя также не учитывать, что, являясь по своим эффектам типичным провоспалительным цитокином, IL6 оказывает противовоспалительное действие. При длительной персистенции ВКЭ было установлено значительное увеличение базальной продукции данного цитокина мононуклеарами [19, 20].

Связующим звеном между механизмами неспецифической защиты и специфическим иммунным ответом является IL12. Этот интерлейкин регулирует баланс Th1 и Th2, стимулируя Th1, а также повышает активность CD8⁺-CTL [31, 32]. Противовирусный эффект IL12 обуславливается его способностью инициировать синтез IFN γ [22]. Исследование способности мононуклеарных лейкоцитов периферической крови у пациентов с КЭ продуцировать IL12 выявило снижение стимулированной секреции данного цитокина при длительной персистенции ВКЭ [16].

Приведенные результаты исследований свидетельствуют о выраженном дисбалансе продукции Th1- и Th2-цитокинов при КЭ. Данные изменения являются следствием нарушения иммунологического равновесия, обеспечивающего полноценное реагирование макроорганизма на вирусную интервенцию. С другой стороны, принимая во внимание лимфотропные свойства ВКЭ, указанные нарушения выступают в качестве причины дисрегуляции иммунной системы посредством модуляции функциональной активности лимфоцитов на молекулярно-генетическом уровне.

Цитогенетическая нестабильность и система ДНК-репарации при клещевом энцефалите

Носителем генетической информации ВКЭ является РНК. В качестве субстрата, встраиваемого в геном клетки-хозяина, выступает ДНК-копия вируса, выполненная ферментом РНК — полимеразой [38]. Выраженное модифицирование генома при интегративной форме вирусной инфекции нецелесообразно,

поскольку грубые структурные повреждения ДНК немедленно рекогносцируются с последующим уничтожением мутантной клетки посредством эффекторных лимфоцитов, обладающих цитотоксической активностью [2]. Однако даже незначительные поломки генетического контроля за иммунным надзором в результате не только встраивания в геном иммунокомпетентной клетки, но и банального интрацеллюлярного пребывания ВКЭ приводят к нарушению реализации механизмов регуляции иммунных реакций макроорганизма с дальнейшим установлением режима длительной сохранности вируса в инфицированной клетке [5, 14].

Особо следует отметить, что повреждающие эффекты генотоксического действия вирусного фактора на клетки макроорганизма определяются как характером и степенью выраженности вызываемых им хромосомных нарушений, так и эффективностью системы репарации, которая обеспечивает поддержание цитогенетического равновесия путем выявления и исправления ошибок, изменяющих последовательность нуклеотидов в ДНК [6, 17]. В литературе стал активно обсуждаться вопрос о роли репарации ДНК и ее регуляции в клетках в патогенезе КЭ. Так, Н.Н. Богомоловой и соавт. [1] продемонстрирована способность ВКЭ подавлять репарационные процессы ДНК в условиях хронической инфекции. Более поздние работы, посвященные анализу последствий индукции ДНК-репарации, показали снижение интенсивности синтеза ДНК при одноволновом типе течения острой нейроинфекции, в то время как при двуволновом типе течения КЭ этот показатель достоверно превышал контрольный уровень [26]. Исследованиями О.Б. Жуковой и соавт. [5] установлено, что клинически выраженная и бессимптомная персистенция ВКЭ сопровождается структурными хромосомными aberrациями лимфоцитов.

Путей репарации, необходимых для выхода из генотоксического стресса, в клетках человека несколько, что обеспечивает дублирующий характер восстановления ДНК. Иницирующим звеном является дореplikативная репарация, включающая фотореактивацию и различные виды эксцизионной репарации; финальным (после процесса репликации) — механизмы, участвующие в рекомбинации или синтезе ДНК *de novo* [30, 45]. При исследовании способности лимфоцитов восстанавливать повреждения клеточного генома, вы-

званные ультрафиолетовым облучением, получены данные, демонстрирующие снижение способности иммунокомпетентных клеток у пациентов с длительной персистенцией ВКЭ к эксцизионной репарации ДНК [26].

Среди возможных механизмов вирусиндуцированного ингибирования репаративной активности ДНК особое внимание в литературе отводится ингибированию ДНК-полимеразы-I вирусными эндонуклеазами. Некоторые дефектные нуклеотидные основания в инфицированных вирусом клетках не распознаются соответствующими ферментами, что приводит впоследствии к цитогенетической нестабильности клеток.

Сниженная активность РНК-полимеразы обуславливает множественность ошибок при транскрипции, в результате чего образуется большое количество квазиштаммов. Интегрируясь в геном клетки, ВКЭ приобретает способность как к горизонтальному распространению, инфицируя соседние клетки, так и к вертикальному — через потомство пораженных клеток. Но, поскольку преобразования генома, как правило, мало существенны, клетки экспрессируют минимальное количество вирусного антигена [22]. Персистентная инфекция со временем устанавливает режим длительной сохранности вирусного генома в инфицированной клетке [14].

Повреждающее влияние ВКЭ на хромосомный аппарат лимфоцитов и вирусиндуцированное угнетение репарационных процессов приводят к генетической и, как следствие, к функциональной неполноценности иммунокомпетентных клеток, отражающейся в изменении цитокинового репертуара. Это в конечном итоге нарушает равновесие между ростовым и апоптотическим потенциалом клеток [5, 17, 26, 27]. В этом отношении исход КЭ, с одной стороны, связан со способностью возбудителя блокировать апоптотический потенциал инфицированной клетки, а с другой — обусловлен интенсивностью активации процесса физиологической гибели содержащей ВКЭ клетки как составной части протективных механизмов макроорганизма.

Роль дисрегуляции апоптоза иммунцитов в патогенезе клещевого энцефалита

Репликация вируса в чувствительных, перmissive клетках зачастую влечет их гибель в результате

цитопатического действия вируса. По всей видимости, цитопатические механизмы в вирусинфицированной клетке служат причиной цитодеструктивных процессов в патогенезе КЭ. Выделяют два типа гибели инфицированных вирусом клеток — цитоллиз и апоптоз. В основе первого лежит необратимое нарушение целостности клеточных мембран, разрушение лизосом и аутолиз пораженной вирусом клетки. Как показали результаты исследования в эксперименте на мышах, введение моноклональных антител против белков Е, М и неструктурного белка NS1 ВКЭ защищает макроорганизм от флавивирусного энцефалита. При тяжелом течении инфекции с активной вирусемией и антигенемией в высоких концентрациях развитие воспалительных реакций в критических органах и тканях осложняет патогенез и ускоряет гибель животных.

Второй путь гибели инфицированной вирусом клетки связан с наступлением ее физиологической смерти, вызванной запуском механизма запрограммированной гибели. С помощью апоптоза удаляются лимфоциты, реализовавшие свои иммунные функции, аутоспецифические клоны и клетки, утратившие способность распознавать антигены в составе молекул главного комплекса гистосовместимости [23]. Более того, поскольку популяция Т-лимфоцитов гетерогенна и включает как эффекторные (CTL), так и регуляторные (Th) клетки, избирательная элиминация отдельных субпопуляций клеток посредством запуска танатогенной программы является фактором, детерминирующим стратегию иммунного ответа [9].

А.А. Ярилин [34] утверждает, что при персистентных вирусных инфекциях сосуществуют факторы, ингибирующие и индуцирующие апоптоз. Полонка в апоптотическом каскаде при вирусных инфекциях является одной из причин повышенной жизнеспособности инфицированных клеток, что, в свою очередь, приводит к неэффективной элиминации вируса и хронизации процесса.

М.П. Исаевой и соавт. [9] был изучен апоптоз на моделях инфицированных ВКЭ культур клеток и новорожденных мышей. Результаты исследования указывают на то обстоятельство, что формирование и накопление вируса в клетке происходит до наступления гибели клеток. Данный факт дает авторам основание полагать, что апоптотический цитопатический эффект ВКЭ является проявлением ответной специфической реакции клетки-хозяина на вирусную инфекцию.

Изучая степень апоптотической готовности лимфоцитов периферической крови у пациентов с длительной антигенемией ВКЭ, были выявлены изменения данного показателя у носителей ВКЭ с практически полной клинической регрессией нейроинфекции, выражением которого явилось увеличение численности клеток, несущих на своей поверхности рецептор CD95 [16]. Инициация суицидальной программы при проникновении вируса в клетку, вероятно, является протективным механизмом, поскольку нежизнеспособная клетка не в состоянии обеспечить репликацию вируса. Поэтому в целях самосохранения вирус стремится подавить апоптоз, сохранив при этом жизнь инфицированной клетке.

Известно, что при хронизации патологического процесса происходит срыв компенсаторных механизмов регуляции в системе иммунитета и преобладание антиапоптотического потенциала вируса над защитными клеточными реакциями [35]. Таким образом, увеличение доли Fas-положительных клеток справедливо рассматривать как адекватную компенсаторную реакцию организма, направленную на элиминацию инфектогена и, как следствие, на блокирование его цитопатического действия.

Ведя речь о выборе клеткой пути выживания или апоптотической гибели, необходимо отметить, что исход зависит от наличия проапоптотических или антиапоптотических рецепторов, а также баланса внутриклеточных посредников соответствующих сигналов [34]. Н.И. Камалов и соавт. [10] на экспериментальной модели КЭ продемонстрировали, что апоптотические процессы при данной инфекции развиваются вследствие дисбаланса иницирующих сигналов. Существенный вклад в изменение апоптотической реактивности лимфоцитарных клеток периферической крови вносит дисбаланс продукции и экспрессии рецепторов цитокинов с про- и противовоспалительной функциями [35].

Иммуногенетические аспекты патогенеза клещевого энцефалита

Вариабельность патогенеза КЭ и зависящих от этого клинических проявлений нейроинфекции обусловлены свойствами инфицирующего штамма вируса, действие которого направлено на модулирование защитных сил организма и ускользание от иммунологического надзора [22]. В то же время в медико-

биологической науке существует концепция, согласно которой подверженность той или иной болезни обусловлена сочетанием в генотипе индивида определенных аллельных вариантов генов, формирующих неблагоприятный наследственный фон, реализующийся при взаимодействии с факторами среды патологического фенотипа [12, 43]. В соответствии с этим одни индивиды обладают относительной резистентностью к инфицированию вирусами, тогда как другие подвержены развитию болезни при контакте с ее возбудителем. По современным представлениям, генетическая детерминированность иммунного ответа макроорганизма предопределяет жизненный цикл инфекционного агента. На сегодняшний день картирован ряд генов, непосредственно определяющих высокую или низкую чувствительность организма к инфекционным агентам, а также охарактеризованы некоторые механизмы их действия [7, 12].

Так, была показана взаимосвязь клинического полиморфизма КЭ с индивидуальными особенностями иммунной системы организма, что проявлялось в тесной ассоциированности с аллельными вариантами генов главного комплекса гистосовместимости [12]. При этом достоверно позитивные ассоциативные связи у больных клещевым энцефалитом выявлены для следующих HLA-фенотипов: A2/B18, A9/B16, A9/B21, A28/B12, A2, B5, B16. Антиген A10, а также фенотип A3/B5 определяют высокий риск развития клещевого энцефалита с поражением оболочек и вещества головного мозга, а антиген B40 и фенотипы A1/B5, A1/B18, A3/B40 ассоциированы с лихорадочной формой заболевания. Антигены A10 и A11, а также фенотипы A10/B7, A10/B16, A11/B7, A11/B35, A2, A10, A3, A11 определяют предрасположенность к развитию двухволнового течения заболевания КЭ. Также была выявлена группа фенотипов, играющих защитную роль: A1/B35, A9/B27, A2, A19, B35/40. Приведенные данные свидетельствуют о существовании ассоциации наследственного фактора больных КЭ лиц с проявлением различных клинических форм данной инфекции, не зависящей от гетерогенности патогенетических свойств клещевого пула ВКЭ. Логично утверждать, что у возбудителя и макроорганизма ВКЭ существуют молекулярные маркеры, определяющие результат их взаимодействия и исход инфекционного процесса. Это выражается в различных патогенетических вариантах,

детерминирующих, в свою очередь, клинические проявления инфекции.

Заключение

Таким образом, персистенция вируса в макроорганизме — своеобразный способ его сосуществования с клетками, выработанный в ходе длительной коэволюции. При этом в вирусинфицированных клетках развиваются не только патологические процессы, направленные на деградиацию и разрушение, но и реакции адаптации, обуславливающие выживание клеток, содержащих вирусные частицы.

Безусловно, исход инфекционного процесса определяется генетическим потенциалом возбудителя, его подвидовой специфичностью. Однако характер взаимоотношений вируса с клетками макроорганизма в большей степени зависит от молекулярных особенностей последнего, от генетической детерминированности иммунного ответа. С одной стороны, вирус обладает иммуносупрессивным воздействием на клетки организма, что приводит к нарушению равновесия в системе иммунитета (цитокиновой сети), с другой — продукция цитокинов реализуется через генетическую детерминированность уровня определенного иммунорегулятора в ответ на инфицирование и способствует распространению вируса в организме.

В настоящее время возникла очевидная необходимость более углубленного изучения молекулярных механизмов реактивности иммунной системы на инвазию и персистенцию вируса клещевого энцефалита для определения прогноза темпов прогрессирования инфекции, а также и для создания профилактических и терапевтических средств поддержания защитных сил инфицированного организма.

Литература

1. Богомолова Н.Н., Матусевич Л.Л., Борискин Ю.С., Засухина Г.Д. Репарационная система «вырезания» при хронической инфекции вируса клещевого энцефалита // Докл. АН СССР. 1974. Т. 217. № 6. С. 1421—1422.
2. Букринская А.Г., Жданов В.М. Молекулярные основы патогенности вирусов. М., 1991. 256 с.
3. Волкова Л.И., Базарный З.И., Соколова З.И. Динамика формирования специфического иммунного ответа при различных клинических формах острого клещевого энцефалита // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2002. № 3—4. С. 28—30.
4. Жукова Н.Г., Подоплека Л.Е., Команденко Н.И. Клещевой энцефалит в Томской области. Томск, 2002. 256 с.

5. Жукова О.Б., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Вирусная персистенция: иммунологические и молекулярно-генетические аспекты // Бюл. сиб. медицины. 2003. № 4. С. 113—119.
6. Засухина Г.Д., Синельщикова Т.А. Мутагенез, антимутагенез и репарация ДНК // Вестн. РАМН. 1993. № 1. С. 9—14.
7. Иерусалимский А.П. Клещевой энцефалит. Новосибирск, 2001. 258 с.
8. Иерусалимский А.П. Клещевые нейроинфекции // Неврол. журн. 2003. № 1. С. 4—9.
9. Исаева М.П., Леонова Г.Н., Кожемяко В.Б. и др. Апоптоз как механизм цитопатического действия вируса клещевого энцефалита // Вopr. вирусологии. 1998. № 4. С. 182—187.
10. Камалов Н.И., Новожилова А.П., Крейчман Г.С. и др. Морфологические особенности клеточной гибели при различных формах острого клещевого энцефалита // Морфология. 1998. Т. 114. № 4. С. 54—58.
11. Кетлинский С.А. Роль Т-хелперов типов 1 и 2 в регуляции клеточного и гуморального иммунитета // Иммунология. 2002. № 2. С. 77—79.
12. Коненков В.И. Структурные основы и функциональная значимость аллельного полиморфизма генов цитокинов человека и их рецепторов // Мед. иммунология. 2003. № 1—2. Т. 5. С. 11—28.
13. Ляшенко В.А. Макрофаги в инфекционном процессе // Иммунология. 1995. № 3. С. 48—52.
14. Маянский А.Н., Бурков А.Н., Астафьев Д.Г., Рассанов С.П. Персистенция вирусов: иммунологические и патогенетические аспекты // Клинич. медицина. 1998. № 12. С. 19—24.
15. Наследникова И.О., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. и др. Феномен хронической антигенемии вируса клещевого энцефалита: возможные пути патогенеза // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. 2005. № 4. С. 446—450.
16. Наследникова И.О., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Молекулярные основы противовирусной стратегии организма. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2005. 128 с.
17. Новицкий В.В., Жукова О.Б., Рязанцева Н.В. и др. Цитогенетика лимфоцитов периферической крови у пациентов с персистенцией вируса клещевого энцефалита // Бюл. СО РАМН. 2003. № 4. С. 32—36.
18. Новицкий В.В., Уразова О.И. Дизрегуляторная патология кроветворной и иммунной системы при инфекционном процессе // Успехи физиол. наук. 2004. Т. 35. № 1. С. 43—52.
19. Пирогова Н.П., Новицкий В.В., Карпова М.Р. и др. Фагоцититарные функции крови у больных острым клещевым энцефалитом // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. 2003. № 1. С. 83—85.
20. Пирогова Н.П., Михайлова О.В., Карпова М.Р. и др. Особенности фагоцититарной активности лейкоцитов периферической крови у больных клещевым энцефалитом // Бюл. эксперимент. биологии и медицины. Прил. 1. 2002. С. 82—85.
21. Погодина В.В., Фролова М.П., Ерман Б.А. Хронический клещевой энцефалит. Новосибирск: Наука, 1986. 232 с.
22. Покровский В.И., Гордиенко С.П., Литвинова В.И. Иммунология инфекционного процесса. М., 1993. 345 с.
23. Потанин М.П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами // Иммунология. 2002. № 4.

- С. 237—243.
24. Ратникова Л.И., Тер-Багдасарян Л.В., Миронов И.Л. Современные представления о патогенезе клещевого энцефалита // Эпидемиология и инфекц. болезни. 2002. № 5. С. 41—46.
 25. Рыженков В.Г., Шилов Ю.И. Изменение отдельных звеньев иммунной системы в зависимости от клинической формы клещевого энцефалита // Мед. иммунология. 2001. Т. 3. № 2. С. 236.
 26. Рязанцева Н.В., Жукова О.Б., Новицкий В.В. и др. Роль иммунофенотипических и цитогенетических изменений лимфоцитов крови в механизмах хронизации вирусной инфекции // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2003. № 6. С. 23—27.
 27. Сепиашвили Р.И., Шубич М.Г., Колесникова Н.В. и др. Апоптоз в иммунологических процессах // Аллергология и иммунология. 2000. Т. 1. № 1. С. 15—23.
 28. Смородинцев А.А., Дубов А.В. Клещевой энцефалит и его вакцинопрофилактика. Л.: Медицина, 1986. 228 с.
 29. Тоголян А.А., Фрейдлин И.С. Клетки иммунной системы. СПб.: Наука, 1999. Т. 2. 298 с.
 30. Тронов В.А., Константинов Е.М., Крамаренко И.И. Роль эксцизионных механизмов репарации ДНК в индукции апоптоза // Биохимия. 2002. Т. 67. Вып. 7. С. 882—889.
 31. Фрейдлин И.С., Тоголян А.А. Клетки иммунной системы. СПб.: Наука, 2001. 390 с.
 32. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Оценка иммунного статуса человека в норме и при патологии // Иммунология. 2001. № 4. С. 4—6.
 33. Черешнев В.А., Гусев Е.Ю. Иммунология воспаления: роль цитокинов // Мед. иммунология. 2001. Т. 3. № 3. С. 361—368.
 34. Ярилин А.А. Межклеточная кооперация при иммунном ответе. Выбор клеткой формы ответа // Иммунология. 1999. № 1. С. 17—24.
 35. Abastado J.P. Apoptosis: function and regulation of cell death // Res. Immunol. 1996. V. 147. P. 443—456.
 36. 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. V. 131. № 1. P. 148—154.
 37. Bakhalova V.N., Rar V.A., Trachev S.E. Tick-borne encephalitis virus strain of Western Siberia // Virus Res. 2000. V. 70. P. 1—12.
 38. Gresikova M., Kaluzova M. Biology of tick-borne encephalitis virus // Acta Virol. 1997. V. 2. P. 115—124.
 39. Haglund M., Gunther G. Tick-borne encephalitis-pathogenesis, clinical course and long-term follow-up // Vaccine. 2003. Bd. 1. № 21. S. 11—18.
 40. Hebeis B.J., Klenovsek K., Rohwer P. et al. Activation of virus-specific memory B cells in the absence of T cell help // J. Exp. Med. 2004. V. 199. № 4. P. 593—602.
 41. Izyska A., Jablonska E., Zajkowska J. et al. Evaluation of FcR and CR receptor expression in granulocytes and immune complex level in patients with tick-borne encephalitis (TBE) // Pol. Merkuriusz Lek. 2000. V. 9. № 52. P. 701—703.
 42. Jaussaud R., Magy N., Strady A. et al. Tick-borne encephalitis // Rev. Med. Interne. 2001. V. 22. № 6. P. 542—548.
 43. Keen L.J. The extent and analysis of cytokine and cytokine receptor gene polymorphism // Transpl. Immunol. 2002. V. 2—3. P. 143—146.
 44. Kondrusik M., Pancewicz S., Zajkowska J. et al. Tumor necrosis factor alpha and interleukin 1-beta in serum of patients with tick-borne encephalitis // Pol. Merkuriusz Lek. 2001. V. 11. № 61. P. 26—28.
 45. Pletnev A.G., Yamshchikow V.F., Blinov V.M. Tick-borne encephalitis virus genome // FEBS Lett. 1993. V. 200. P. 317—321.
 46. Russel P.K., Brandt W.E., Dalruple J.M. Chemical and antigenic structure of Flaviviruses // The Togaviruses / Ed. by R.W. Schlesinger. N.Y.: Acad. Press, 1980. P. 503—529.
 47. Samuel C.E. Antiviral Actions of Interferons // Clinical Microbiology Reviews. 2001. V. 14. № 4. P. 778—809.
 48. So E.Y., Park H.H., Lee C.E. IFN-gamma and IFN-alpha posttranscriptionally down-regulate the IL4-induced IL4 receptor gene expression // J. Immunol. 2000. V. 10. P. 5472—5479.
 49. Villinger F. Cytokines as clinical adjuvants: how far are we? // Expert. Rev. Vaccines. 2003. V. 2. P. 317—326.

Поступила в редакцию 06.01.2006 г.